

INSTITUTO POLITÉCNICO DE BEJA

Escola Superior Agrária de Beja

Mestrado em Engenharia do Ambiente

**Fitoremediação de afluentes com elevados teores de
azoto e boro**

Pedro Miguel Nobre Correia

Beja

2019

INSTITUTO POLITÉCNICO DE BEJA

Escola Superior Agrária de Beja

Mestrado em Engenharia do Ambiente

**Fitoremediação de afluentes com elevados teores de azoto e
boro**

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Beja para a obtenção do grau de
Mestre em Engenharia do Ambiente.

Elaborado por:

Pedro Miguel Nobre Correia

Orientadores:

Professora Doutora Maria Adelaide Almeida

Professor Doutor Humberto Chaves

Beja

2019

Dedico esta tese ao meu pai, porque onde quer que ele esteja, tenho a certeza absoluta que está muito orgulhoso de mim!

Agradecimentos

- ✓ À Doutora Adelaide Almeida por o apoio, motivação, ensinamentos e ajuda durante todo o processo de elaboração desta dissertação;
- ✓ Ao Doutor Humberto Chaves, que se mostrou sempre disponível para ajudar a qualquer coisa que lhe fosse pedido;
- ✓ À Doutora Fátima Carvalho por toda a sua incentivação, apoio e ajuda em qualquer situação que lhe fosse solicitada;
- ✓ À Eng.^a Maria José Imaginário, Dr.^a Maria Ivone Castanheira, Mariana Raposo e Eng.^a Isabel Simões por todo o esclarecimento de dúvidas, ajuda nas técnicas de laboratório e pela amizade;
- ✓ Às minhas colegas Mikaella Mello e Namira Sigma da licenciatura de Engenharia do Ambiente pela ajuda, amizade e compreensão na elaboração deste trabalho;
- ✓ De forma geral, a todos os docentes da Licenciatura/Mestrado em Engenharia do Ambiente, do Instituto Politécnico de Beja, que me ajudaram no percurso académico;
- ✓ À Ana Palma, que me ajudou e apoiou nesta etapa da minha vida, principalmente, nos momentos maus que sempre me incentivou e nunca me deixou desmotivar e baixar os braços;
- ✓ Especialmente à minha família, mãe Maria, irmão Diogo, avôs Manuel e Carminda, tenho que agradecer a todos eles de uma forma emocionada por tudo o que sou hoje e sem eles tudo isto não seria possível. UM GRANDE OBRIGADO!

A todos, Obrigado!!!

Resumo

Neste trabalho foi utilizada uma zona húmida artificial piloto (ZHA) com escoamento vertical, plantada com *Vetiveria zizanioides* em argila expandida (Leca® NR10/20). A remoção de compostos de azoto e de boro foi estudada para concentrações iniciais de azoto amoniacal até 86 ± 2 mg/L e de boro até 30 ± 1 mg/L.

Obtiveram-se eficiências de remoção de N-NH_4^+ até $58 \pm 2\%$ na ZHA em que a altura de substrato era maior (0,70 m) e de azoto total até $42 \pm 5\%$ na ZHA com menor altura de substrato (0,35 m). Também a taxa de nitrificação/ desnitrificação foi influenciada pela altura da ZHA, com menores valores de nitrato e nitrito no efluente da ZHA com uma altura de substrato de 0,35 m. Assim, conclui-se que a profundidade interferiu com a eficiência de remoção de compostos de azoto.

Obtiveram-se eficiências de remoção de boro até $19 \pm 5\%$ na presença de matéria orgânica (MO) e de $56 \pm 7\%$ quando o afluente não possuía MO na sua composição. Assim, pode concluir-se que a presença MO inibiu a remoção de boro.

Palavras-chave: Azoto amoniacal, boro, escoamento subsuperficial com fluxo vertical, fitoremediação, matéria orgânica, *vetiveria zizanioides*, zona húmida artificial.

Abstract

In this work, a vertical flow constructed wetland (VFCW) planted with *Vetiveria zizanioides* in expanded clay (Leca® NR10 / 20) was used.

Removal of nitrogen and boron compounds was studied at initial concentrations of ammonium nitrogen up to 86 ± 2 mg / L and boron up to 30 ± 1 mg / L.

Ammonium nitrogen removal efficiencies up to $58 \pm 2\%$ were obtained in VFCW with higher depth bed (0.70 m) and total nitrogen up to $42 \pm 5\%$ in VFCW with lowest depth bed (0.35 m). Also, nitrification /denitrification rate was influenced by VFCW depth bed, with lower nitrate and nitrite values in the effluent of VFCW with lowest depth bed. The results showed that depth bed interfered with removal efficiency of nitrogen compounds.

Boron removal efficiencies up to $19 \pm 5\%$ and $56 \pm 7\%$ were obtained, respectively in affluent composed with organic matter (OM) and only with boron. So, the presence of OM interfered with boron removal efficiencies.

Keywords: Ammoniacal nitrogen, artificial wetlands, boron, subsurface vertical flow, organic matter, phytoremediation, *zizanioides vetiveria*.

Índice Geral

Agradecimentos.....	I
Resumo	II
Abstract.....	III
Índice Geral	IV
Índice de Figuras	VI
Índice de Quadros	VIII
Índice de Acrónimos e Siglas	IX
1. Introdução.....	1
1.1 Objetivos.....	1
1.1.1 Objetivo geral.....	1
1.2 Enquadramento do tema	2
2. Zonas Húmidas Artificiais (ZHA).....	4
2.1 Descrição geral	4
2.2 Classificação das ZHA.....	5
2.2.1 Plantas presentes em Zonas Húmidas Artificiais	6
2.2.1.1 Macrófitas submersas	6
2.2.1.2 Macrófitas flutuantes.....	6
2.2.1.3 Macrófitas emergentes	7
2.2.2 Hidrologia e modo de escoamento numa Zona Húmida Artificial	7
2.2.2.1 ZHA com fluxo superficial (FS)	8
2.2.2.2 ZHA com fluxo subsuperficial (FSS)	10
2.2.2.2.1 ZHA com fluxo em modo horizontal (FSSH).....	10
2.2.2.2.2 ZHA com fluxo em modo vertical (FSSV).....	11
2.2.2.2.3 ZHA com sistemas híbridos	13
2.3 Principais componentes das zonas húmidas artificiais	14
2.3.1 Substrato.....	14
2.3.1.1 Condições do substrato.....	14
2.3.2 Microrganismos.....	15
2.3.3 Vegetação	16
2.3.3.1 Nutrientes	17
2.3.3.2 Aspetos gerais da fitorremediação.....	19

2.4 Parâmetros operacionais que interferem com o funcionamento de uma Zona Húmida Artificial.....	21
3. Mecanismos de remoção	23
3.1 Remoção de compostos de azoto	23
3.2 Remoção de boro	25
4. Toxicidade de Azoto e Boro nas plantas	27
4.1 Toxicidade de Azoto nas plantas	27
4.2 Toxicidade de boro nas plantas.....	29
5. Material e métodos	32
5.1 Composição dos afluentes utilizados	32
5.2 Instalação piloto das ZHAs utilizadas	32
5.3 Remoção de compostos de azoto	33
5.4 Remoção de boro	34
5.5 Monitorização geral do sistema	35
5.6 Tratamento de dados e análise estatística	36
6. Resultados e Discussão.....	36
6.1 Remoção de compostos de azoto	36
6.1.1 Efeito da temperatura	36
6.1.2 Crescimento das plantas	37
6.1.3 Composição da biomassa foliar.....	39
6.1.4 Influência da carga de azoto amoniacal e da profundidade das ZHAs na variação de pH, condutividade eléctrica (CE) e oxigénio dissolvido (OD)	41
6.1.5 Remoção de compostos de azoto	43
6.1.5.1 Azoto amoniacal.....	43
6.1.5.2 Nitratos e Nitritos	47
6.1.5.3 Azoto total.....	48
6.2 Remoção de compostos de boro	50
6.2.1 Efeito da temperatura	50
6.2.2 Influência da variação do oxigénio dissolvido (OD), potencial redox (Eh), condutividade eléctrica (CE) e o pH.	56
6.2.3 Avaliação da remoção de boro	59
7. Conclusão.....	63
8. Referências Bibliográficas.....	65
9. Anexos.....	71

Anexo I	71
Anexo II	72
Anexo III.....	75
Anexo IV.....	81
Anexo V	83

Índice de Figuras

Figura 1 - Classificação de ZHAs (adaptado de Vymazal & Kröpfelová, 2008).....	5
Figura 2- Classificação de Zonas Húmidas Artificiais, em função do tipo de escoamento hidráulico (adaptado de Kadlec e Wallace, 2008).	8
Figura 3 - Zona húmida artificial com plantas emergentes e escoamento superficial. (Adaptado de Vymazal, 2003).....	9
Figura 4 - Zona húmida artificial povoada com espécies fixas submersas (Adaptado de Wallace, <i>et al.</i> , 2006).....	9
Figura 5 - Zona húmida artificial povoada com espécies flutuantes (Adaptado de Wallace, <i>et al.</i> , 2006).....	9
Figura 6 - Representação em profundidade de uma zona húmida artificial de escoamento subsuperficial com fluxo horizontal (Fonte: 4agreenfuture, 2018).	11
Figura 7 -Representação em profundidade de uma zona húmida artificial de escoamento subsuperficial com fluxo vertical (Fonte: GESAD, 2015) LEGENDA:1- afluente; 2- macrófitas; 3- substrato; 4- tubulação de alimentação de coleta; 5- sentido do fluxo; 6- tubulação de coleta; 7- impermeabilização; 8- controlador de nível; 9- efluente final). 12	
Figura 8 - Contribuição de enzimas extracelulares para a degradação de poluentes, em ZHAs (adaptado de Gianfreda & Rao, 2004).	16
Figura 9 - Relação geral entre a biomassa da vegetação e a concentração de nutrientes disponível para assimilação (adaptado de Kadlec & Wallace, 2009).....	18
Figura 10 - Alguns mecanismos de fitorremediação envolvidos na remoção de poluentes (adaptado de Vithanage &Herath, 2015).....	19
Figura 11 - Mecanismos gerais de remoção de poluentes em ZHAs (adaptado de Zhang et al. 2014).	23
Figura 12- Evolução do azoto em leitos de macrófitas (Simões, 2009).....	25
Figura 13 - Variação do pH com a percentagem da espécie em solução aquosa (Mavioso, 2010).	26

Figura 14- Esquema de um dos cinco leitos piloto da ZHA plantada com <i>Vetiveria zizanioides</i> (Almeida, <i>et al.</i> , 2018).....	32
Figura 15- Representação esquemática (a) e (b) do sistema de ZHAs, composto por duas ZHAs com alturas diferentes (ZHA 1 ($0,24\text{ m}^2 \times 0,70\text{ m}$) e a ZHA 2 ($0,24\text{ m}^2 \times 0,35\text{ m}$)) (Almeida, <i>et al.</i> , 2018).....	33
Figura 16 - Esquema do sistema piloto composto por <i>Vetiverias zizanioides</i> com a respetiva identificação das ZHAs (Almeida, 2018).	34
Figura 17 -Temperatura do ar observada durante os ensaios, desde março até julho. ...	36
Figura 18- Crescimento da <i>Vetiverias zizanioides</i> na ZHA 1 e na ZHA 2.	38
Figura 19- Elementos essenciais (Cálcio (Ca^{2+}), Magnésio (Mg^{2+}), Sódio (Na^+), Potássio (K^+)) e concentração de nutrientes (Azoto (N), Fósforo (P)) nas folhas da <i>Vetiveria Zizanioides</i> , no início e no fim dos ensaios na ZHA 1 e na ZHA 2.	40
Figura 20 - Concentração de clorofilas a (Ca), b (Cb), totais (Ca+b) e carotenoides (Cx+c) em mg/g de biomassa verde na ZHA 1 e 2.	40
Figura 21 -Variação do pH (a), CE (b) e OD (c) no afluente e efluente na ZHA 1 e na ZHA 2 com a carga de azoto total (NT_{Aflu}) aplicada.	41
Figura 22 - Remoção de azoto amoniacal e eficiência de remoção na ZHA 1 e 2, relativamente, a carga de azoto total (NT_{Aflu}) aplicada.	43
Figura 23 -Nomograma para determinar a $[\text{N-NH}_4^+]_{\text{efluente}}$ dependendo da carga hidráulica (Ch) e da $[\text{N-NH}_4^+]_{\text{afluente}}$ no afluente da ZHA 1.....	46
Figura 24- Nomograma para determinar a $[\text{N-NH}_4^+]_{\text{efluente}}$ dependendo da carga hidráulica (Ch) e da $[\text{N-NH}_4^+]_{\text{afluente}}$ no afluente da ZHA 2.	47
Figura 25 - Variação da carga de Nitrato (a) e Nitrito (b) produzida, em relação, a carga de azoto total (NT_{Aflu}) aplicada na ZHA 1 e na ZHA 2.....	47
Figura 26 - Remoção de azoto total (NT) e eficiência de remoção, comparativamente, com a carga de azoto aplicada (NT_{Aflu}) na ZHA 1 e na 2.....	49
Figura 27 - Temperatura do ar observada durante os ensaios, nos meses de junho e julho.....	50
Figura 28 - Efeitos visíveis das macrófitas na ZHA 4 (a) com concentrações de boro de 30 mg B/L e de CQO de $90 \pm 11\text{ mg/L}$, na ZHA 5 (b) com concentração de boro de $30 \pm 1\text{ mg B/L}$	51
Figura 29- Crescimento da <i>Vetiverias zizanioides</i> ao longo da realização do estudo com a seguinte alimentação: (ZHA 3- CQO, ZHA 4 - CQO e boro e ZHA 5 boro).....	51

Figura 30 - Teor de humidade (% de humidade) na (a) ZHA 3-CQO e na (b) ZHA 4 - CQO + Boro e ZHA 5 - Boro.	53
Figura 31 - Concentração de Cálcio (Ca^{2+}), Magnésio (Mg^{2+}), Sódio (Na^+), Potássio (K^+), Azoto (N) e fósforo (P) em mg /g biomassa seca nas ZHA 3 (CQO), 4 (CQO + Boro) e 5 (Boro) em relação a carga aplicada.	54
Figura 32 – Concentração de clorofilas a, b, totais e carotenoides (mg/g biomassa verde) nas ZHA 3 (CQO), 4 (CQO + Boro) e 5 (Boro), em relação a carga aplicada.	55
Figura 33 - Valores de oxigénio dissolvido (OD) no afluente e no efluente para as cargas de CQO de 17 g CQO/m ² .d e de 6 e 3 g B/m ² .d, nas ZHA 3 (CQO), 4 (CQO + Boro) e 5 (Boro).	56
Figura 34 - Valores de potencial redox (Eh) no afluente e no efluente para as cargas de CQO de 17 g CQO/m ² .d e de 6 e 3 g B/m ² .d, nas ZHA 3 (CQO), 4 (CQO + Boro) e 5 (Boro).	57
Figura 35 - Valores de condutividade elétrica no afluente e no efluente para as cargas de CQO de 17 g CQO/m ² .d e de 6 e 3 g B/m ² .d, nas ZHA 3 (CQO), 4 (CQO + Boro) e 5 (Boro).	58
Figura 36 -Valores de pH no afluente e no efluente para as concentrações de CQO de 17 g CQO/m ² .d e de 6 e 3 g B/m ² .d, nas ZHA 3 (CQO), 4 (CQO + Boro) e 5 (Boro).	59
Figura 37 -Valores da carga removida de boro no afluente e no efluente nas ZHA 4 (CQO + Boro) e 5 (Boro).	60
Figura 38 - Nomograma para determinar a concentração efluente em função da carga hidráulica e da concentração matéria orgânica e boro no afluente na ZHA 4.	61
Figura 39- Nomograma para determinar a concentração de saída em função da carga hidráulica e da concentração de entrada de boro no afluente da ZHA 5.	62

Índice de Quadros

Quadro 1 - Transformações de azoto que ocorrem numa zona húmida artificial (Vymazal, 2007).	24
Quadro 2 - Condições operatórias utilizadas e características dos afluentes às ZHAs 1 e 2.	34
Quadro 3 - Condições operatórias utilizadas e características dos afluentes às ZHAs 3,4, 5.	35
Quadro 4 - Condições utilizadas para análise dos nitratos e nitritos em solução aquosa por cromatografia iónica.	75

Índice de Acrónimos e Siglas

- C_a – Clorofila a;
- C_b – Clorofila b;
- C_{a+b} – Clorofila Total;
- Ch- Carga Hidráulica;
- C_m – Carga mássica;
- C_{x+c} – Carotenoide Total;
- CQO - Carência química de oxigénio;
- ETAR – Estação de Tratamento de Águas Residuais;
- FS – Fluxo de Superfície Livre;
- FSS – Fluxo Subsuperficial;
- FSSH – Fluxo Subsuperficial Horizontal;
- FSSV – Fluxo Subsuperficial Vertical;
- MO – Matéria Orgânica;
- N-Kj – Azoto de Kjeldahl;
- OD – Oxigénio Dissolvido;
- SST – Sólidos Suspensos Totais;
- TRH – Tempo de Retenção Hidráulico;
- ZHs – Zonas Húmidas;
- ZHAs – Zonas Húmidas Artificiais;
- ZHN – Zonas Húmidas Natural.

1. Introdução

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo geral estudar a possibilidade da utilização de Zonas Húmidas Artificiais (ZHAs), plantadas com *Vetiveria Zizanioides* em agregados leves de argila expandida (Leca® NR10/20) para remover compostos de azoto e boro presentes em afluentes.

1.2 Enquadramento do tema

A rápida expansão do desenvolvimento urbano, agrícola e industrial está frequentemente associada com o aumento substancial de águas residuais, que necessitam de ser tratadas previamente à sua deposição.

Muitas destas águas residuais, nomeadamente as águas residuais urbanas, industriais, drenagem de águas pluviais, lixiviação de aterros possuem na sua composição uma vasta gama de substâncias químicas dissolvidas ou em suspensão e também a presença de microrganismos. A composição destas águas depende da sua origem, mas na maioria dos casos apresentam sempre elevados teores de matéria orgânica, azoto, fósforo, sólidos suspensos totais (SST), metais pesados, compostos de enxofre, óleos e gorduras, compostos fenólicos. Nos últimos anos temos deparado com outro tipo de substância nas águas residuais urbanas e industriais, nomeadamente a presença de fármacos, herbicidas, compostos de boro (provenientes na maioria dos casos na composição dos herbicidas e fertilizantes), entre outros. Estas águas residuais, se depositadas no meio recetor sem o tratamento necessário, causam graves danos ambientais, nomeadamente a contaminação e deterioração da qualidade dos substratos, dos cursos de água subterrâneos e superficiais (eutrofização), toxicidade nas plantas e poluição atmosférica de que resultam chuvas ácidas.

Assim, é premente impedir que alguns destes compostos, nomeadamente os compostos de azoto e boro, entrem nas massas de água, pelo que se torna necessário, adotar boas práticas agrícolas, nomeadamente no que respeita à fertilização, com compostos azotados muito associados a compostos de boro, utilização de pesticidas e ou reutilização de efluentes. Também o tratamento das águas residuais é obrigatório previamente à sua deposição no meio recetor ou valorização agrícola, de modo a cumprir a legislação nacional e comunitária e evitar a deterioração da qualidade ambiental.

Os sistemas de tratamento mais utilizados em Portugal, designados normalmente como sistemas convencionais de tratamento, englobam o pré-tratamento, tratamento primário e secundário. Assim, após a obra de entrada, podemos encontrar sistemas de lagoas de estabilização, ou sistemas com/sem decantador primário, seguidos de leitos percoladores, lamas ativadas, etc.

Em geral estes sistemas, são dimensionados com o objetivo de remover matéria orgânica biodegradável e sólidos em suspensão. De acordo com o Decreto-lei nº 152/97 de 19 de junho, devem apresentar eficiências de remoção entre 70 a 90% de matéria

orgânica (CBO₅ e CQO) e SST, e entre 70 a 80% de azoto e fósforo. No que concerne à remoção de boro estes sistemas de tratamento, frequentemente não permitem obter eficiências de remoção tão elevadas.

Existem neste momento em Portugal, algumas ETARs, projetadas essencialmente com o objetivo de remoção de nutrientes, matéria orgânica, e.g. valas de oxidação, sistemas de lamas ativadas modificadas, reatores biológicos sequenciados (SBR), entre outros. No entanto todos estes sistemas de tratamento implicam elevados custos de manutenção e operação, consumo de energia, produção de grandes quantidades de lamas que necessitam ser tratadas previamente à sua deposição ou reutilização. Devido a algumas das desvantagens das tecnologias aplicadas no tratamento de efluentes, já referidas, tem-se intensificado a procura de soluções alternativas, ecológicas e não produzam subprodutos fatais ao ambiente.

Uma solução que tem vindo a ser bastante utilizada, desde meados dos anos 60 do século passado com sucesso, no tratamento de diversos tipos de efluentes, é o recurso a sistemas de tratamento que têm como base a utilização de plantas e a deposição no substrato do afluente, frequentemente designada como fitoremediação. Este é um processo que utiliza plantas para remover poluentes dos efluentes ou para os inativar. É considerada uma tecnologia emergente e altamente promissora para a remediação de sítios poluídos devido à sua eficiência e relação custo-benefício, além de serem tecnologias consideradas “amigas do ambiente”. Permite, através da atividade fotossintética das plantas a redução do dióxido de carbono atmosférico, que é um dos objetivos do “Acordo de Paris”, que como sabemos, visa alcançar a descarbonização das economias mundiais com vista à redução da temperatura ambiente, reduzir significativamente os riscos e impactos das alterações climáticas.

Quando esta tecnologia é aplicada ao tratamento de águas residuais em locais construídos para o efeito, é denominada por Zonas Húmidas Artificiais (ZHAs), também conhecidas por “Constructed Wetlands”.

As Zonas Húmidas (ZHs) são dimensionados e construídos com o objetivo de utilizar os processos naturais que envolvem as plantas, o substrato e a sua interação com a comunidade microbiana presente para proceder ao tratamento de efluentes de um modo controlado. Têm sido utilizadas no tratamento de diversos tipos de efluente, entre eles águas residuais urbanas, industriais, águas pluviais, águas ácidas de minas e para remoção de poluentes orgânicos, inorgânicos, metais pesados, compostos de boro, entre muitos outros poluentes.

Face ao exposto anteriormente, propomo-nos neste trabalho, (como já foi referido nos objetivos) avaliar a possibilidade de utilizar ZHAs, como uma solução a ser utilizada para o tratamento de efluentes onde estejam presentes compostos de azoto e de boro, dado que na região onde estamos inseridos, a agricultura extensiva ter aumentado bastante nos últimos anos e acarretou o aumento do teor de alguns compostos de azoto, nomeadamente o nitrato nas águas subterrâneas e de compostos de boro em algumas águas de superfície e afluentes de cursos de águas superficiais.

2. Zonas Húmidas Artificiais (ZHAs)

2.1 Descrição geral

As Zonas Húmidas (ZHs) são consideradas zonas de transição entre os ecossistemas terrestres e aquáticos, são zonas de sapal, paul, turfeira ou água, natural ou artificial, de carácter permanente ou temporário, com água parada ou corrente, doce, salobra ou salgada, constituindo estas zonas, ecossistemas de grande complexidade, pois são formados por uma grande diversidade de seres vivos, tais como, plantas, animais e fungos (Vymazal & Kröpfelová 2005; Kadlec & Wallace, 2008). Estas zonas com índices de humidade elevados são habitadas por plantas com a capacidade de crescerem em substratos saturados e de lhes alterarem as propriedades, devido à ocorrência de um conjunto de operações físicas, processos químicos e biológicos (Kadlec & Wallace, 2008).

As Zonas Húmidas Artificiais, também denominadas “Constructed Wetlands” ou “Reed Beds” tiveram a sua origem na utilização de zonas húmidas para a deposição de efluentes. As zonas húmidas foram utilizadas durante séculos para a deposição, não controlada, de águas residuais. Os primeiros ensaios, sobre a possibilidade de tratamento de águas residuais em Zonas Húmidas Artificiais ou construídas (ZHAs), foram desenvolvidos na Alemanha pela Dr.^a Käthe Seidel. O primeiro sistema à escala real iniciou o seu funcionamento na década 1960s. Desde então, esta tecnologia tem sido amplamente utilizada com sucesso, na Europa, nos Estados Unidos e na Austrália (Kadlec & Wallace, 2008).

As Zonas Húmidas Artificiais (ZHAs) apresentam vantagens, quando comparadas com as Zonas Húmidas Naturais (ZHNs) pois para estas é selecionado o local de construção, o tipo de substrato, a espécie de plantas. Também o seu tamanho é

selecionado de acordo com restrições ambientais e a qualidade dos efluentes a tratar. Estes sistemas são dimensionados e construídos com o objetivo de utilizar os processos naturais que envolvem as plantas, o substrato e a sua interação com a comunidade microbiana presente, para desta forma proceder ao tratamento de afluentes de um modo controlado. São sistemas biológicos de tratamento de afluentes contidos num leito artificial preenchido com substrato natural ou artificial, com profundidade tipicamente inferior a 1 m, que suporta o crescimento de algumas espécies de plantas.

2.2 Classificação das ZHA

As ZHAs podem ser classificadas de acordo com vários parâmetros, mas os dois mais importantes são o tipo de vegetação dominante que as habita, [emergentes, flutuantes (enraizadas ou não enraizadas) e submersas], ou em termos operativos, pela forma como o afluente as percorre (sistemas de fluxo superficial (FS) e fluxo subsuperficial (FSS) que poderá ser em movimento vertical ou horizontal) (Figura 1).

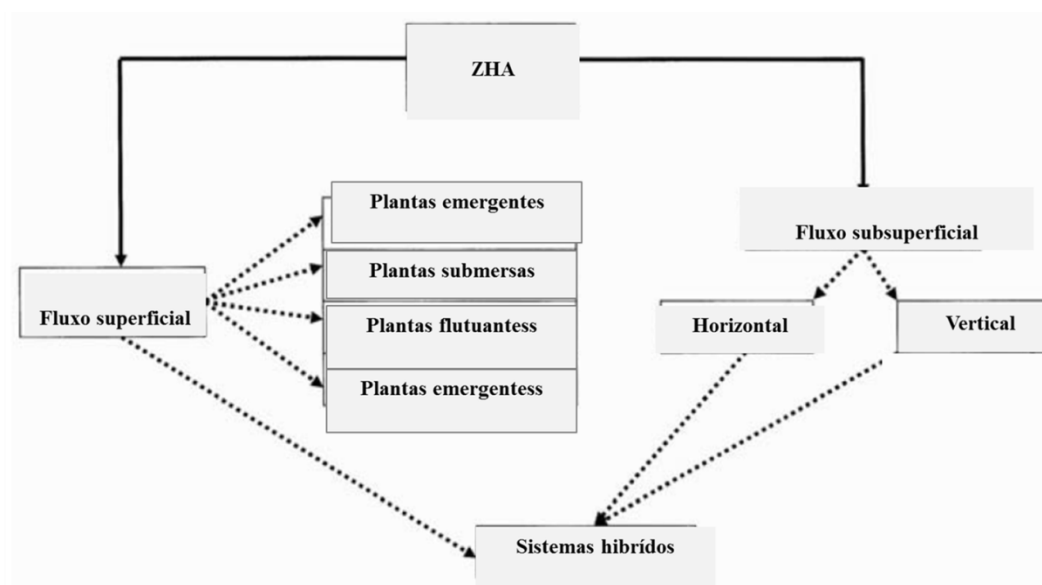


Figura 1 - Classificação de ZHAs (adaptado de Vymazal & Kröpfelová, 2008).

Nos subcapítulos seguintes efetua-se a descrição das principais características de cada uma destas tecnologias, começando pelo tipo de plantas, e posteriormente o tipo de escoamento hidráulico.

2.2.1 Plantas presentes em Zonas Húmidas Artificiais

As plantas que habitam nas zonas húmidas artificiais são denominadas macrófitas, onde estão incluídas as plantas aquáticas vasculares (angiospérmicas e fetos), musgos aquáticos e algumas grandes algas com tecidos facilmente visíveis. Podem ser classificadas com base no meio em que se desenvolvem, resultando três grandes grupos: macrófitas submersas, flutuantes e emergentes (Vithanage & Herath, 2015).

2.2.1.1 Macrófitas submersas

As macrófitas submersas passam todo o seu ciclo de vida totalmente submersas na massa de água, podem ou não estar fixa por raízes. Estas plantas podem absorver o oxigénio dissolvido e dióxido de carbono a partir da coluna de água. Alguns exemplos incluem *Ceratophyllum demersum*, *Myriophyllum spicatum*, *Hydrilla verticillata*, *Heteranthera dubia*.

2.2.1.2 Macrófitas flutuantes

Este grupo pode dividir-se em dois subgrupos: um onde se encontram as plantas enraizadas nos sedimentos, que pode estar a profundidades de 0,5 a 3 m, e. g. *Nymphaea spp* e *Nuphar spp*, e outro em que as espécies flutuam livremente na superfície da água, não estão enraizados no substrato. Estas são geralmente utilizadas em sistemas sem turbulência, como a *Eichhornia crassipes* e *Pistia stratiotes* (Brix, 2003, Vithanage & Herath, 2015).

Existe uma grande diversidade de macrófitas flutuantes que diferem entre si pela sua forma ou pelo seu habitat. Estas plantas podem variar desde grandes plantas com flores aéreas e/ou folhas flutuantes e com raízes submersas bem desenvolvidas, até plantas flutuantes com poucas raízes ou até mesmo com total ausência destas. Estão adaptadas para absorverem o máximo de luz e poderem facilmente efetuar as trocas gasosas com a atmosfera (Brix, 2003).

2.2.1.3 Macrófitas emergentes

Neste grupo estão englobadas as plantas enraizadas no substrato e cujas folhas se encontram fora de água. Em geral produzem caules aéreos, folhas, raízes extensas e sistemas de rizomas. As plantas estão morfologicamente adaptadas para crescerem em substrato submerso ou inundado, em virtude dos seus enormes espaços intercelulares para transporte de oxigénio para as raízes e rizomas (Brix, 2003). São consideradas intermédias entre as terrestres e as aquáticas propriamente ditas, são muito produtivas, uma vez que aproveitam as vantagens do meio terrestre e aquático, ou seja, não sofrem limitações de água e têm um maior acesso à luz que as plantas submersas.

Algumas das plantas mais utilizadas em ZHA são *Phragmites australis*, *Typha sp.*, *Glyceria sp.*, *Scirpus sp.*, *Iris pseudacorus*, *Juncus effuses* e *Cyperus spp* (crescem em terrenos saturados de água ou em substratos submersos, onde o nível da água pode variar de 0,5 m abaixo da superfície do substrato até 1,5m ou mais).

É possível utilizar outro tipo de plantas emergentes, nomeadamente o arroz (*Oryza Sativa*), *Vetiveria zizanioides*, *Miscanthus giganteus*, embora estas sejam pouco utilizadas em Portugal, existem alguns resultados sobre o seu desempenho na remoção de compostos de azoto (Almeida *et al.*, 2012; Ribeiro, *et al.*, 2016; Almeida, *et al.*, 2017).

2.2.2 Hidrologia e modo de escoamento numa Zona Húmida Artificial

Segundo Kadlec & Wallace (2008), em termos de hidrologia, as ZHAs podem ser classificadas de acordo o modo com o afluente as percorre. Esta divide as ZHAs em dois grandes grupos, os de fluxo superficial ou de água livre (FS); fluxo subsuperficial (FSS), que se pode dividir em fluxo subsuperficial horizontal (FSSH); fluxo subsuperficial vertical (FSSV) e híbridos, que resultam da combinação de sistemas de FSSH com sistemas FSSV (Wu, *et al.*, 2015). Na Figura 2 estão representados os diferentes tipos e combinações de ZHA segundo a hidrologia e tipo de fluxo.

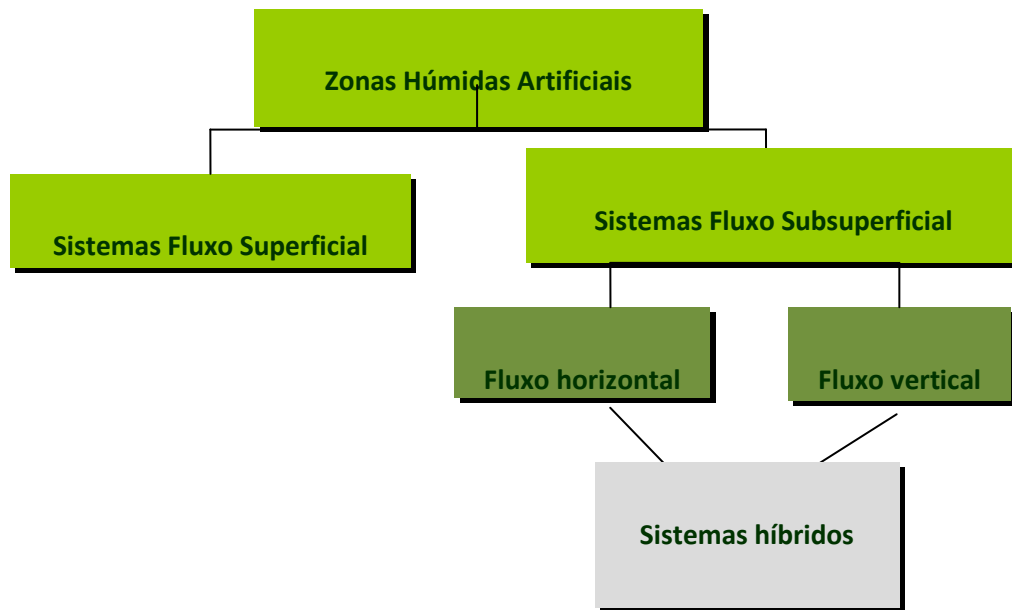


Figura 2- Classificação de Zonas Húmidas Artificiais, em função do tipo de escoamento hidráulico (adaptado de Kadlec & Wallace, 2008).

Um leito com escoamento superficial consiste numa bacia de pouca profundidade com substrato ou outro meio de suporte das raízes das plantas. Os sistemas em superfície livre são muito idênticos às zonas húmidas naturais, por isso são atraídos por uma grande variedade de vida selvagem, ou seja, insetos, moluscos, peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos.

As ZHAs com escoamento superficial são geralmente classificadas em função do tipo de plantas existentes no leito, estas têm sempre parte dos seus tecidos vegetais imersos na coluna de água, como já foi referido anteriormente. Assim podem ser do tipo:

- **Emergentes** – as plantas aquáticas encontram-se com as raízes fixas na base do leito, numa pequena camada de substrato, apresentando a parte inferior do caule submersa e a parte superior à superfície. Este tipo de leito encontra-se representado esquematicamente na Figura 3.
- **Submersas** – plantas aquáticas totalmente submersas na massa de água. Este tipo de leito encontra-se representado esquematicamente na Figura 4.
- **Flutuantes** – as plantas aquáticas encontram-se a flutuar na superfície da água, não tendo as raízes fixas no fundo do leito. Este tipo de leito encontra-se representado esquematicamente na Figura 5.

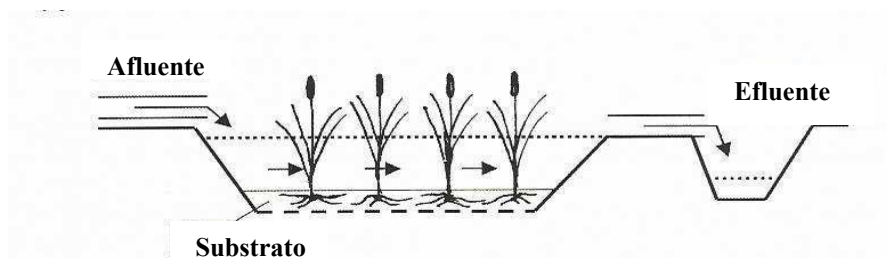


Figura 3 - Zona húmida artificial com plantas emergentes e escoamento superficial. (Adaptado de Vymazal, 2003)

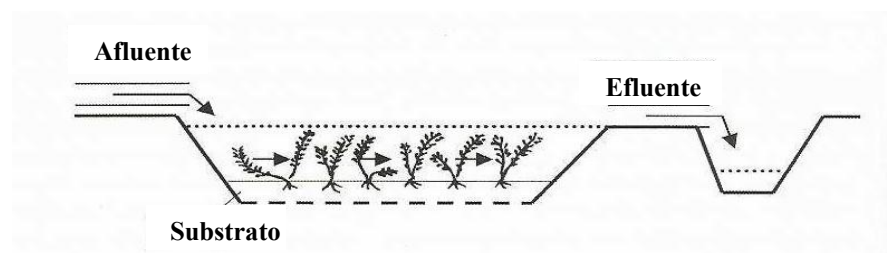


Figura 4 - Zona húmida artificial povoada com espécies fixas submersas (Adaptado de Wallace, *et al.*, 2006).

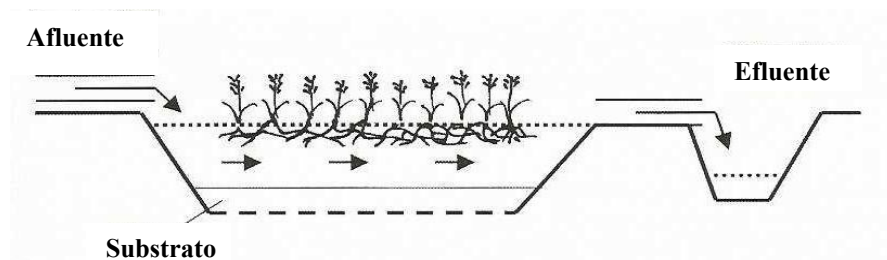


Figura 5 - Zona húmida artificial povoada com espécies flutuantes (Adaptado de Wallace, *et al.*, 2006).

O desenvolvimento de mosquitos e outros insetos pode constituir um problema, uma vez que a água se encontra facilmente acessível acima do substrato, (Kadlec & Wallace, 2008). Assim, dado a exposição a agentes patogénicos a que o Homem e outros animais podem estar sujeitos, e porque podem contribuir para a disseminação de doenças, as ZHAs com superfície livre raramente são utilizadas no tratamento secundário de afluentes.

A aplicação mais comum para os sistemas em FS é no tratamento avançado de efluentes urbanos, agrícolas e industriais, após processos de tratamento secundário ou terciário. As ZHAs em FS têm uma elevada capacidade de suportar grandes variações de caudal, alimentação intermitente e flutuações do nível superficial de água.

Frequentemente também se utilizam no tratamento de águas de minas, águas subterrâneas e lixiviados de aterros. Estes sistemas são adequados a todos os climas, no entanto, a formação de gelo pode impossibilitar o escoamento do líquido. As taxas de remoção de algumas substâncias diminuem também devido às baixas temperaturas. Além disso, se o gelo cobrir a superfície livre da água, a transferência de oxigénio a

partir da atmosfera é reduzida diminuindo a eficácia do tratamento (Kadlec & Wallace, 2008).

2.2.2.2 ZHA com fluxo subsuperficial (FSS)

Numa ZHA com FSS o efluente é mantido abaixo da superfície do substrato, percorre lentamente o sistema através dos poros do substrato, até à saída. Durante este percurso o líquido contacta com diversas zonas, com diferentes estados de oxidação, zonas aeróbias, anóxicas e anaeróbias (Vymazal, 2005). Estes sistemas de tratamento são constituídos por uma bacia impermeabilizada de pouca profundidade contendo um material de enraizamento das plantas, denominado substrato, poroso que pode ser gravilha, pedaços de rocha, areia ou outro tipo de Substrato, por onde a água passa. A área disponível para o crescimento das populações microbianas inclui as raízes das plantas que crescem no substrato, bem como as superfícies submersas do próprio substrato (Vymazal, 2005; Kadlec & Wallace, 2008). Neste tipo de sistemas, as plantas estão completamente enraizadas no material do substrato.

Dado que o afluente não está em contacto com a atmosfera, nestes sistemas é menor a probabilidade de surgirem odores e insetos e de ocorrer contacto entre pessoas e a água residual (Kadlec & Wallace, 2008). As ZHAs podem ser divididas em leitos com escoamento na horizontal (FSSH) ou na vertical (FSSV), dependendo da forma como o líquido percorre o leito.

2.2.2.2.1 ZHA com fluxo em modo horizontal (FSSH)

Nos sistemas com escoamento em modo subsuperficial horizontal (Figura 6) o afluente entra próximo da superfície e percola na horizontal, atravessando o material de enchimento (substrato) e o sistema radicular das plantas presentes. Desta forma está em contacto com zonas com perfis de oxigénio diferentes, que existem ao redor das raízes e rizomas (Vymazal, 2005). Os processos biológicos que ocorrem no seu interior devem-se ao contacto entre o afluente e zonas com diferentes estados de oxigenação, aeróbia, anóxica e anaeróbia, onde se encontram os microrganismos, os órgãos subterrâneos das plantas (raízes e rizomas) e o material de enchimento do leito (Vymazal & Kröpfelová, 2008). Assim, o oxigénio necessário para a degradação microbiana aeróbia é fornecido diretamente da atmosfera por difusão molecular ou através do sistema radicular das

plantas (Brix, 1997). A capacidade de transporte de oxigénio é insuficiente para garantir a decomposição aeróbia na rizosfera pelo que os processos anóxicos e anaeróbios desempenham um papel importante nas ZHA com escoamento horizontal (Vymazal & Kröpfelová, 2008). Estes sistemas apresentam uma grande capacidade de remoção de matéria orgânica (MO) e de sólidos suspensos totais (SST), mas como as quantidades de oxigénio transferidas não são muito elevadas, torna-se difícil de obter a nitrificação completa (Cooper, *et al.*, 1999; Kadlec & Wallace, 2008).

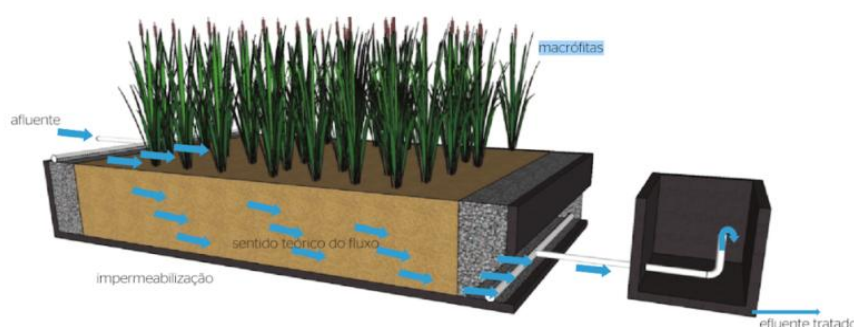


Figura 6 - Representação em profundidade de uma zona húmida artificial de escoamento subsuperficial com fluxo horizontal (Fonte: 4agreenfuture, 2018).

A remoção do azoto ocorre através de reações de nitrificação e desnitrificação, mas devido à falta de oxigénio no interior dos leitos a nitrificação é incompleta, pelo que esta é a etapa limitante do processo (Vymazal, 2007). A volatilização, adsorção e assimilação pelas plantas das zonas húmidas, são também outros mecanismos que contribuem, para a remoção de compostos de azoto (Vymazal & Kröpfelová, 2008).

2.2.2.2.2 ZHA com fluxo em modo vertical (FSSV)

O escoamento em modo vertical poderá ser descendente ou ascendente. O que os distingue é o modo como a distribuição e movimento do afluente é feita. Nos sistemas com escoamento em modo vertical descendente a água residual a tratar é distribuída à superfície e percola na vertical, infiltrando-se rapidamente, até ser recolhida inferiormente junto à base do leito (Figura 7). Nos sistemas ascendentes o escoamento ocorre por contracorrente e por capilaridade, normalmente com a utilização de sistemas mecanizados.

A alimentação aos leitos pode ser feita de modo intermitentemente, distribuindo o líquido sobre a superfície do leito normalmente e recolhido na base. O leito fica

inundado, quando é alimentado e seca quando se faz a drenagem do efluente. Durante este período é possível que o oxigénio ocupe os espaços vazios no substrato. A difusão do oxigénio do ar permite uma melhor e mais eficiente oxigenação do substrato, por isso estes leitos são bastantes utilizados quando é necessário efetuar a nitrificação do azoto amoniacal (Cooper, *et al.*, 1999 in Kadlec & Wallace, 2008).

Muitos destes sistemas consistem em vários leitos paralelos ou em série, que são alimentados durante 1 a 2 dias, descansando em seguida 3 a 6 dias, num sistema rotativo, embora possam existir combinações muito variadas (Cooper, *et al.*, 1999 in Vymazal & Kröpfelová, 2008).

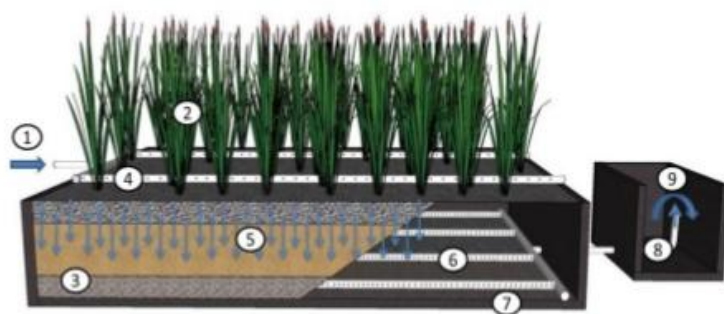


Figura 7 -Representação em profundidade de uma zona húmida artificial de escoamento subsuperficial com fluxo vertical (Fonte: GESAD, 2015) LEGENDA:1- afluente; 2- macrófitas; 3- substrato; 4- tubulação de alimentação de coleta; 5- sentido do fluxo; 6- tubulação de coleta; 7- impermeabilização; 8- controlador de nível; 9- efluente final).

Um dos principais problemas destes sistemas é a colmatção do substrato, que depende do modo como a distribuição do material de enchimento no leito é efetuada, do tamanho do material de enchimento (substrato) e da sua condutividade hidráulica, da carga orgânica aplicada, do teor de sólidos presentes no afluente a tratar, dos ciclos de carga e de recuperação do sistema. Geralmente, o material de enchimento destes leitos é constituído por camadas de gravilha com dimensões diferentes, de grande diâmetro na base (30 a 60 mm) diminuindo à medida que se aproximam do topo (6 mm) e areia na superfície (Vymazal, 2001). Podem ser utilizados outros substratos, nomeadamente os agregados leves de argila expandida. Este tipo de material apresenta algumas vantagens, evitam a colmatção do meio, apresentam uma grande área superficial para o desenvolvimento microbiano e reduzem o teor de ácidos húmicos no efluente (Novais & Martins-Dias, 2003).

Os principais processos de tratamento são idênticos, quer o escoamento seja efetuado na horizontal ou vertical. No entanto, os sistemas com escoamento vertical

apresentam condições muito mais aeróbias que os leitos com escoamento subsuperficial horizontal, pelo que podem ser utilizados tanto para remoção de MO, como para a nitrificação, mas estes sistemas apresentam pouca capacidade de promover condições ótimas para a ocorrência de desnitrificação, assim como para a remoção de sólidos suspensos. A remoção de fósforo depende da utilização no substrato a que o fosfato se possa ligar quimicamente (Vymazal, 2003).

A alimentação em modo vertical aos leitos também pode ser efetuada em regime de alagamento e vazamento “tidal flow”. Os leitos são cheios com afluentes que depois é drenado, durante a fase de enchimento o ar é expelido e as plantas e a respetiva matriz de suporte (substrato) são gradualmente submersas. A fase de drenagem do efluente permite a entrada de ar no leito, a entrada e saída de água no leito tem uma função idêntica a um embolo, que “empurra” o ar do leito para entrar a água e no período de drenagem permite que o ar entre (Sun, *et al.*, 1999; Sun, *et al.*, 1999a). Este tipo de alimentação é bastante benéfico no que concerne à entrada de oxigénio nos leitos, levando a que as taxas de remoção de MO e azoto amoniacal aumentem.

Como já foi referido anteriormente, estes leitos com escoamento em modo vertical, em geral não são utilizados para efetuar a desnitrificação, dado que é assumido que este é um processo biológico, que ocorre na ausência de oxigénio. No entanto podem, se utilizada uma taxa de inundação, isto é se aumentar a quantidade de água retida no leito, diminuir o teor de oxigénio, para que a desnitrificação ocorra. É uma solução bastante versátil e que permite associar leitos com escoamento em modo vertical, para promover a remoção de compostos de azoto, nomeadamente nitrificação e desnitrificação. Na ESA foi instalado um sistema piloto com escoamento em modo vertical descendente, contínuo, onde foi possível obter elevadas eficiências de desnitrificação as rondar os 90 %, com taxa de inundação de 50%.

2.2.2.2.3 ZHA com sistemas híbridos

Os sistemas híbridos são sistemas constituídos por leitos de fluxo vertical e fluxo horizontal, geralmente combinados com o objetivo de aumentar a eficiência de tratamento, em especial a remoção de azoto. Têm vindo a ser bastante utilizados na Europa, devido às restrições e limites de descarga de azoto no meio hídrico (Cooper, 1999; Cooper, 2005; Vymazal, 2007). Nestes sistemas, as vantagens e desvantagens de cada tipo de fluxo podem ser combinadas de maneira a se complementarem. Os

sistemas horizontais são conhecidos por possuírem teores limitados de oxigénio e os verticais, maiores condições de oxigenação. Através da combinação destes dois tipos de leitos é possível produzir um efluente com baixo teor de matéria orgânica, completamente nitrificado e parcialmente desnitrificado (Cooper, 2001 in Vymazal & Kröpfelová, 2008).

2.3 Principais componentes das zonas húmidas artificiais

Após ter referido as espécies de plantas que podem ser utilizadas [emergentes, fixas (enraizadas) e flutuantes] e o modo como o efluente pode percorrer as ZHAs, importa referir os principais constituintes das ZHAs com algum pormenor e o quais as funções que desempenham no processo de tratamento. As ZHAs são constituídas por uma matriz de suporte ou substrato, plantas aquáticas, contidas em bacias impermeabilizadas com sistema de drenagem e comunidade microbiana fixada nas raízes das plantas e no substrato.

2.3.1 Substrato

O substrato também conhecido como matriz de suporte é um componente bastante importante nas ZHAs, especialmente naquelas em que o escoamento hidráulico é efetuado em modo subsuperficial. Tem como função suportar a vegetação, fornecer área para a fixação de microrganismos. As suas propriedades químicas podem ainda determinar o tipo e a força das interações entre a matriz de suporte e as moléculas poluentes, através de processos de adsorção à superfície ou mesmo no seu interior, estabelecendo ligações intermoleculares do tipo van der Waals, troca iónica e complexação na superfície da matriz de suporte (Li, *et al.*, 2013).

2.3.1.1 Condições do substrato

As condições do substrato, especificamente a textura e estrutura podem condicionar o desenvolvimento da vegetação nas ZHAs. Por outro lado, as condições de saturação das ZHAs configuram-se determinantes nos processos e mecanismos de transferência de oxigénio entre as plantas e o substrato, condicionando o seu desenvolvimento e o desempenho das ZHAs.

As condições de inundação do substrato influenciam a transferência de oxigénio da atmosfera para o substrato. A difusão ocorre 10.000 vezes mais lentamente em substratos saturados, face a substratos arejados (Greenwood, 1961). Em circunstâncias de inundação, as bactérias aeróbias e outros organismos consomem o oxigénio num período de tempo compreendido de horas á dias (Pezeshki, 1994). As quantidades deficitárias de oxigénio no substrato impedem a satisfação das necessidades das plantas e afetam funções essenciais como a abertura dos estomas, fotossíntese, balanço hidrológico e assimilação de nutrientes.

2.3.2 Microrganismos

A comunidade microbiana, essencialmente constituída por bactérias e fungos, é responsável por grande parte da remoção de poluentes presentes nas águas a tratar, nomeadamente matéria orgânica (MO), azoto, fósforo, entre outros. Nas raízes e rizomas das plantas ou no material de enchimento desenvolvem-se de um modo diversificado em biofilme, pois a presença das plantas permite a existência de gradientes de oxigénio e a alternância de microzonas com diferentes estados de oxigenação (Kadlec & Wallace, 2008). A sua atividade depende de numerosos fatores, entre eles a temperatura, o valor de pH, as condições de oxigenação, presença de MO, macro e micronutrientes, etc. O efeito de cada um destes fatores sobre a comunidade microbiana depende dos microrganismos que estão presentes no meio. Em geral, os microrganismos são classificados em dois grandes grupos relativos às necessidades energéticas e nutricionais: os autotróficos e os heterotróficos. Os primeiros sintetizam substâncias orgânicas a partir de substratos inorgânicos (CO_2 , H_2O). Já os heterotróficos requerem substratos orgânicos para retirar a energia necessária ao seu metabolismo (Metcalf & Eddy, 2003).

Os processos microbianos que ocorrem nas ZHAs incluem um conjunto de reações de hidrólise enzimática de grandes moléculas orgânicas noutras mais pequenas e de fácil degradação ou a síntese de compostos orgânicos (Kadlec & Knight, 1996), sendo que algumas destas enzimas são produzidas pelos microrganismos que existem no biofilme (Figura 8). Estes componentes enzimáticos, são poderosos catalisadores capazes de modificar extensivamente as propriedades estruturais e toxicológicas dos contaminantes ou mineralizar completamente a molécula orgânica em produtos inorgânicos inócuos (Gianfreda & Rao, 2004).

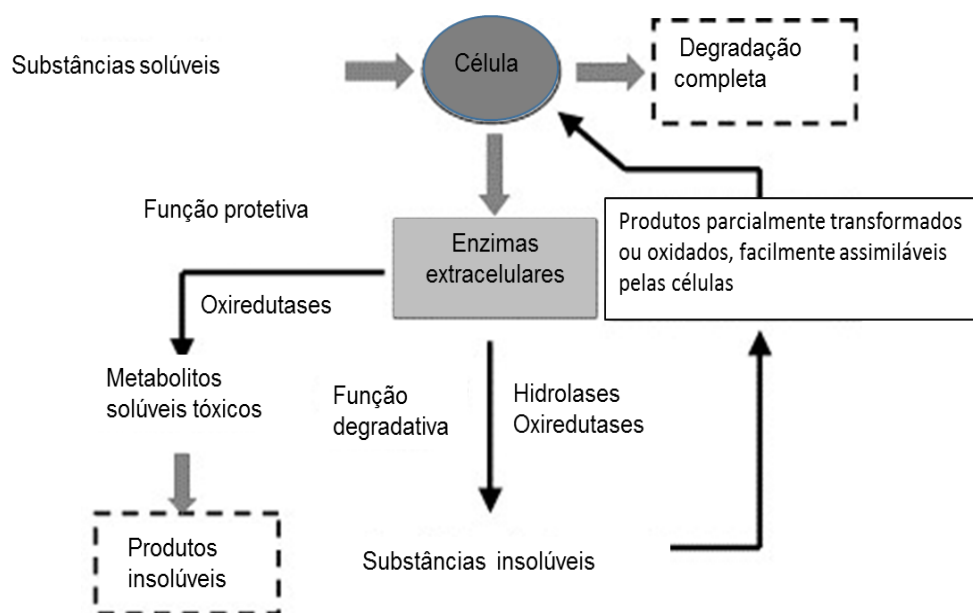


Figura 8 - Contribuição de enzimas extracelulares para a degradação de poluentes, em ZHAs (adaptado de Gianfreda & Rao, 2004).

2.3.3 Vegetação

As plantas existentes nas ZHAs, como já foi referido, estão morfologicamente adaptadas para viverem em substratos alagados, possuem canais de ar internos (arênquimas) nos caules e folhas que transportam oxigénio e permitem a libertação de vapor de água, metano e dióxido de carbono para as raízes e rizomas.

O sistema de espaços intercelulares está em comunicação com o ar atmosférico, por meio de estomas, situados nas folhas e nos caules emersos. Este tecido permite o desenvolvimento de plantas em terrenos encharcados, sem sofrerem asfixia radicular. A libertação do oxigénio faz-se essencialmente através da extremidade das raízes, proporcionando alternância de zonas aeróbias com anaeróbias e anóxicas (Brix, 1997, Brix, 2003). Esta alternância permite, que nas zonas aeróbias ocorra a nitrificação e o nitrato seja difundido para as microzonas anaeróbias no substrato, onde ocorre a desnitrificação (Kadlec & Wallace, 2008).

Dos seus órgãos superiores até às raízes, o potencial redox varia, associado ao desenvolvimento de formas de vida distintas, que permitem a ocorrência de diversos processos microbianos. As plantas desempenham um papel fundamental para os

microrganismos uma vez que possuem um sistema radicular denso, criando condições para a sua fixação e, transportando o ar atmosférico. Contudo as plantas não são o único veículo de transporte de oxigénio nas ZHAs, dado que a sua entrada nos leitos também pode ocorrer através da convecção e a difusão atmosférica (Cooper, 2005).

A presença de vegetação distribui e reduz a velocidade da água o que melhora as condições para a sedimentação dos SST, reduz o risco de erosão e resuspensão e aumenta o tempo de contacto entre a água e a área superficial das plantas. A manutenção da condutividade hidráulica do leito é também atribuída ao contínuo crescimento de raízes e rizomas das plantas que promove o espaçamento no material do substrato abrindo caminhos para a passagem do efluente. A morte de alguns sistemas radiculares e a sua permanência no leito podem contribuir igualmente para o aumento da condutividade hidráulica do leito (Brix, 1997).

A seleção do tipo de planta a utilizar é um passo bastante importante, pois esta deve ter capacidade de sobreviver às condições operatórias, à qualidade da água residual a tratar, considerando que nos efluentes podem estar substâncias tóxicas, por exemplo os metais pesados, baixos valores e pH, entre outros.

As plantas conseguem “defender-se” de alguns poluentes através de diversos mecanismos, nomeadamente através da produção de enzimas ou outras substâncias, excretam exsudados, ácidos orgânicos. Estes mecanismos que contribuem para a remoção de poluentes e têm como intervenientes principais as plantas e a comunidade microbiana presente no sistema radicular, são denominados por alguns autores por fitorremediação (Lee, 2013; Sabir *et al.* 2015; Vithanage & Herath, 2015).

2.3.3.1 Nutrientes

O desenvolvimento das plantas só é possível quando as quantidades essenciais de nutrientes se encontram presentes. Os nutrientes essenciais apresentam várias características, designadamente (Arnon & Stout, 1939):

- i. A presença é indispensável para que se processe o ciclo vegetativo;
- ii. Não pode ser substituído por outro elemento;
- iii. Está intrinsecamente relacionado com o metabolismo da planta.

Os nutrientes para as plantas podem ser divididos em macronutrientes e micronutrientes. Os macronutrientes são, de um modo geral, absorvidos em maior quantidade pelas plantas e, desde que esteja estabelecido um equilíbrio com os outros nutrientes e/ou forma de absorção, não são fitotóxicos. Dentro desta norma, o Azoto (N), o Fósforo (P), o Enxofre (S), o Cálcio (Ca), o Magnésio (Mg) e o Potássio (K), são macronutrientes.

Os micronutrientes são aqueles que são consumidos em menor quantidade. O Ferro (Fe), o Manganésio (Mn), o Zinco (Zn), o Molibdénio (Mo), o Boro (B) e o Cloro (Cl), são considerados micronutrientes e podem, acima de determinada quantidade ser tóxicos.

A assimilação de azoto pela vegetação relaciona-se com a eficiência de remoção de azoto. A vegetação atua simultaneamente como fonte e sumidouro de nutrientes. Por um lado, incorporam nutrientes para as suas funções metabólicas, sendo que as raízes e rizomas atuam predominantemente como poços de azoto e fosforo. Como Huett, *et al.* 2005, demonstraram, as plantas incorporam pelas raízes e rizomas 76% de azoto e 86% de fosforo do afluente de entrada (10,1 mg/l e 0,58 mg/l, respetivamente). Por outro lado, as ZHAs sem vegetação, apresentam eficiências de remoção mais baixas, inferiores a 16% para a remoção de azoto e inferiores a 45% para remoção de fosforo da coluna líquida.

As plantas assimilam nutrientes até à quantidade ótima (máxima), quando a disponibilidade de nutrientes suplanta as necessidades metabólicas de nutrientes da planta, atinge-se a fitotóxicidade, tal como demonstrado na figura seguinte.

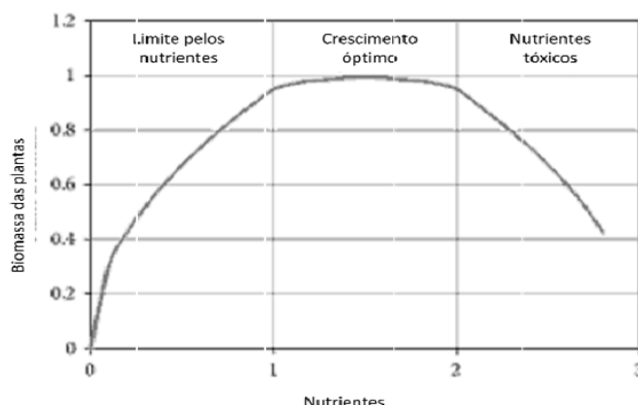


Figura 9 - Relação geral entre a biomassa da vegetação e a concentração de nutrientes disponível para assimilação (adaptado de Kadlec & Wallace, 2009).

2.3.3.2 Aspectos gerais da Fitorremediação

A fitorremediação é uma tecnologia verde, que reduz os impactos ambientais dos efluentes a serem tratados e o local ideal para que seja aplicada ao tratamento de efluentes é nas ZHAs. A fitorremediação pode ocorrer de diversos modos e tendo em conta a atividade fisiológica das plantas. O sucesso da fitorremediação depende principalmente de uma variedade de fatores ambientais, incluindo estrutura do substrato, matéria orgânica, disponibilidade de água e oxigênio, temperatura, nutrientes, radiação solar e inundações. Esses fatores tendem a aumentar a biodisponibilidade dos contaminantes e a capacidade das plantas de absorver, translocar e acumular contaminantes nos novos rebentos e interações entre as plantas e microrganismos (Lee, 2013). Alguns desses mecanismos são denominados por: fitoextração, fitodegradação, fitoestabilização, fitovolatilização e rizofiltração (Figura 10). Estes mecanismos não são exclusivos e podem ocorrer em simultâneo, contribuindo desta forma para a diversidade de aplicações da fitorremediação.

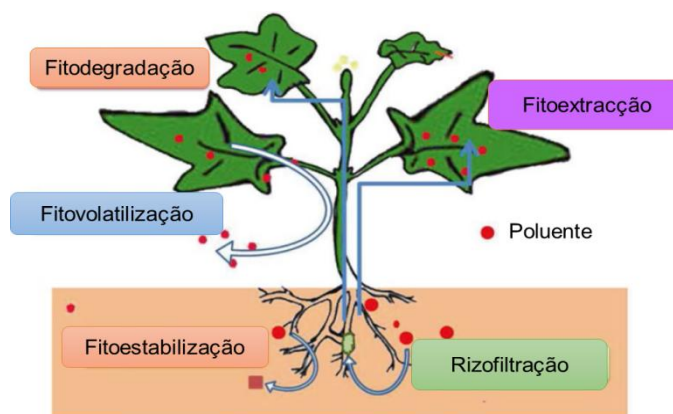


Figura 10 - Alguns mecanismos de fitorremediação envolvidos na remoção de poluentes (adaptado de Vithanage & Herath, 2015).

Pode-se, muito sucintamente, descrever em que consiste cada um deles, por forma a melhor se entender o que ocorre no interior das ZHAs e o papel relevante das plantas utilizadas. A **fitoextração** (que pode incluir a fitoacumulação, fitoabsorção ou fitosequestração) refere-se à absorção de contaminantes pelas raízes das plantas e a sua translocação e acumulação nos caules e folhas. Normalmente é utilizada quando se pretendem remover metais pesados. O sucesso da fitoextração é fortemente determinado pelo tipo de planta, pela quantidade de biomassa produzida, a concentração de metais pesados nos tecidos das plantas e a fração biodisponível dos metais no meio de enraizamento. A **translocação** dos metais para a biomassa aérea é um processo

bioquímico crucial para uma fitoextração eficaz porque a colheita da biomassa radicular, geralmente não é exequível (Ali, *et al.*, 2013). No final do tratamento as plantas podem ser colhidas, incineradas de modo a recuperar os metais.

A **fitodegradação**, consiste na libertação de enzimas pelas plantas que contribuem para a para degradação de compostos orgânicos em compostos mais simples e menos tóxicos, isoladamente ou em combinação com os microrganismos do substrato. Em alguns casos os poluentes transformam-se em compostos que são usados para o crescimento das plantas. As plantas possuem a capacidade de excretar enzimas para o substrato alterando a atividade enzimática do substrato e interferindo com os processos de remoção de poluentes, nomeadamente o azoto (Kong, *et al.*, 2009; Singh & Kumar, 2008). Nos processos de desnitrificação os exsudados, juntamente com biomassa proveniente da morte das plantas, podem contribuir para um acréscimo do teor em carbono necessário para as bactérias heterotróficas desnitrificantes (Bastviken *et al.*, 2005; Bastviken *et al.*, 2009; Songliu *et al.*, 2009).

A **fitoestabilização** refere-se à utilização de plantas para imobilizar contaminantes no substrato, reduzindo deste modo a sua mobilidade e biodisponibilidade no ambiente, o que simultaneamente reduz o risco e minimiza a degradação ambiental.

A **fitovolatilização** é a absorção dos poluentes pelas plantas e sua libertação ou das suas formas modificadas na atmosfera por volatilização. Os contaminantes absorvidos pelas raízes passam para as folhas e são volatilizados através dos estomas, onde ocorre a troca gasosa. Também pode ocorrer a emissão direta dos contaminantes a partir da fase aquosa para a atmosfera. Este mecanismo pode ser usado para poluentes orgânicos (compostos orgânicos voláteis) e alguns metais pesados como Se, As e Hg. A fitovolatilização é o mecanismo mais polémico da fitorremediação pelo facto de não remover os poluentes, apenas os transfere de um compartimento (substrato ou água) para outro (atmosfera), onde podem permanecer como poluentes e/ou ser redepositados (Ali *et al.* 2013; Lee, 2013).

A **rizofiltração** refere-se ao uso dos sistemas radiculares de plantas para interceptar ou degradar contaminantes aquáticos. Tem a vantagem de poder ser aplicada *In situ* ou *Ex situ* e, podem ser usadas espécies não hiperacumuladoras. Juntamente com a fitoextração são os mecanismos com potencial mais elevado para a fitorremediação de metais em águas (Lee, 2013).

2.4 Parâmetros operacionais que interferem com o funcionamento de uma Zona Húmida Artificial

O desempenho de uma ZHA depende de uma ampla gama de fatores: temperatura, pH oxigénio dissolvido, potencial redox, carga hidráulica (o caudal aplicado em função da área do leito), tipo de escoamento hidráulico, o modo de alimentação, intermitente ou contínuo, tempo de retenção hidráulico (tempo que o efluente demora a percorrer a ZHA), condutividade hidráulica, altura do leito, carga de poluentes, frequência de corte das plantas e etc (Kadlec & Wallace 2009; Wu, *et al.*, 2015). Alguns estão interrelacionados uns com os outros, como se pode constatar a seguir.

O valor de pH e temperatura interferem com o desenvolvimento dos microrganismos e plantas presentes na ZHA, dado que os processos que ocorrem no seu interior são essencialmente de bio e fitoremediação. O crescimento da biomassa vegetal bem como a temperatura interferem com a solubilidade do oxigénio no efluente a tratar, e com a sua difusão no interior da ZHA (Kadlec & Wallace 2009; Wu, *et al.*, 2015).

A disponibilidade de oxigénio (DO) é um parâmetro crucial para determinado tipo de reações, como, a nitrificação, degradação aeróbia da matéria orgânica. Por outro lado, há processos que ocorrem na ausência de oxigénio. Sendo este um parâmetro bastante importante no desempenho do sistema. Pode aumentar ou diminuir, dependendo do tipo de escoamento hidráulico (subsuperficial que pode ser vertical ou horizontal) e também depende grandemente das cargas mássicas aplicadas e, como já foi referido anteriormente, da carga hidráulica. A planta selecionada influencia a atividade fotossintética, entre outros. Também o potencial redox está relacionado com o teor em oxigénio disponível no interior da ZHA e com o tipo de reações que decorrem (Kadlec & Wallace, 2009).

A carga hidráulica (Ch) é um dos principais fatores que controlam a eficiência e o desempenho de uma ZHA, uma vez que interfere com o tempo de retenção hidráulico (TRH), que influencia o tempo de contacto entre os poluentes, os microrganismos e as plantas, bem como as cargas mássicas de poluentes que são aplicadas e também OD no interior da ZHA.

O modo como a alimentação da ZHA é efetuada, escoamento em modo vertical ou horizontal, em modo contínuo ou intermitente condiciona as condições de oxidação-redução e o teor em OD. A altura do substrato é um fator crucial na determinação do

tipo de planta a selecionar porque influencia a quantidade e tipo de microrganismos presentes, com consequências na remoção dos poluentes.

A condutividade hidráulica representa um parâmetro de importância significativa no estudo e dimensionamento de ZHA de escoamento subsuperficial, sendo relevantes as alterações que pode sofrer ao longo da vida útil do leito, devido à progressiva ocupação dos interstícios por sedimentos, biofilme, rizomas e raízes.

O corte da parte aérea das plantas pode contribuir para o aumento da remoção de poluentes, nomeadamente assimilação de azoto ou mesmo de metais pesados (fitoextração). No caso dos metais pesados, deve proceder-se à sua extração, na grande maioria dos casos com inceneração e recuperação dos metais (Kadlec & Wallace, 2009).

Outro parâmetro também bastante importante é a disponibilidade de carbono, no caso de se pretender que a comunidade microbiana heterotrófica se desenvolva. Este normalmente está presente no efluente a tratar, pode ocorrer a libertação de exudados das plantas e decaimento da biomassa vegetal e microbiana.

A remoção de poluentes presentes na água residual/efluente a tratar, pode ocorrer através da conjugação de operações e processos unitários físicos, químicos e biológicos (bioremediação e fitorremediação) (Figura 11), depende de diversos fatores operacionais e ambientais, também da composição química de cada poluente, do tipo de planta selecionada e matriz de substrato, como já foi referido anteriormente (Zhang *et al.*, 2014).

A transformação e remoção dos poluentes presentes no afluente ocorrem através de numerosos processos interrelacionados de natureza química (oxidação-redução, precipitação), física (filtração, adsorção; sedimentação; difusão) e biológica, incluindo a biodegradação de compostos orgânicos pelas bactérias, processos de fitorremediação. As substâncias solúveis são transformadas e removidas maioritariamente por processos que ocorrem na zona da rizosfera e nas superfícies da(o) matriz/meio (substrato), assim a remoção dos poluentes solúveis está diretamente relacionada com a extensão e tempo de contacto entre o afluente, as plantas, o substrato e com as características do escoamento que se desenvolve ao longo dos leitos (Zhang *et al.*, 2014).

No entanto, é bastante difícil descrever individualmente estes mecanismos de remoção, pois a ocorrência de uns depende da ocorrência de outros e da relação simbiótica entre plantas, microrganismos e matriz de substrato, como já foi referido anteriormente (Zhang *et al.*, 2014).

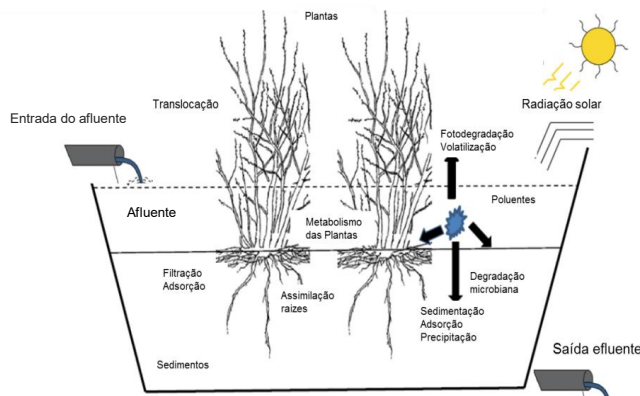


Figura 11 - Mecanismos gerais de remoção de poluentes em ZHAs (adaptado de Zhang *et al.* 2014).

3. Mecanismos de remoção

3.1 Remoção de compostos de azoto

Os compostos de azoto podem apresentar-se sob diversas formas químicas, nomeadamente o amónio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-), amoníaco (NH_3), óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O) e azoto gasoso (N_2). O azoto encontra-se também ligado a átomos de carbono ou outros, designado genericamente por azoto orgânico. A conversão destas substâncias, umas nas outras, ou a sua eliminação ocorre através de uma série de operações unitárias e processos físicos, químicos e biológicos (Kadlec & Wallace, 2008).

É de extrema importância efetuar corretamente a escolha da planta a utilizar, pois apesar destas necessitarem de azoto para o seu desenvolvimento, em excesso pode ser tóxico, causando a clorose¹ das folhas, supressão de crescimento, alteração da morfologia da raiz, diminuição da fotossíntese, desequilíbrio iónico nas células e alteração dos constituintes celulares (*e.g.* aminoácidos e açúcares) (Britto & Kronzucker, 2002). Em termos gerais, o azoto orgânico é convertido em amónio, posteriormente oxidado a nitrato e este pode ser desnitrificado e convertido a azoto

¹ As folhas não produzem clorofila suficiente, apresentam uma coloração diferente do normal: verde pálido ou amarelado.

molecular ou outros subprodutos. Existem outros processos bem documentados na literatura e que podem contribuir para a eliminação de compostos azotados, nomeadamente a assimilação pelas plantas e microrganismos, adsorção de amónio e oxidação anaeróbia de azoto amoniacal, dito *anammox*. Algumas destas transformações bioquímicas necessitam de energia proveniente, na maior parte dos casos, de reações que envolvem o carbono ou noutras reações, em que os compostos de azoto libertam energia que é usada pelos microrganismos para a sua síntese celular e crescimento. Todas estas reações são necessárias para o bom desempenho das ZHA (Kadlec & Wallace, 2008; Vymazal, 2007). O Quadro 1 representa sinteticamente os processos e reações que ocorrem numa ZHA.

Quadro 1 - Transformações de azoto que ocorrem numa zona húmida artificial (Vymazal, 2007).

Processo	Transformações
Volatilização	-
Amonificação	Azoto orgânico → Amónia
Nitrificação	Amónia → Nitrito → Nitrato
Amonificação de nitrato	Nitrato → Amónia
Desnitrificação	Nitrato → Nitrito → N ₂ gasoso, N ₂ O
Fixação de azoto (N ₂)	N ₂ gasoso → Amónia (N orgânico)
Assimilação (plantas e microrganismos)	Amónia, Nitrito e Nitrato → N orgânico
Adsorção de amónia	-
ANAMOX (oxidação anaeróbica de amónia)	Amónia → N ₂ gasoso

O azoto orgânico é mineralizado para amónia através de processos de hidrólise e degradação bacteriológica, que por sua vez será oxidada para nitrato por bactérias nitrificantes presentes nas zonas aeróbias (IWA, 2000).

A desnitrificação ocorre em zonas sem oxigénio (anaeróbia ou anóxicas), geralmente entre raízes, e permite reduzir os nitratos e o azoto livre, através do crescimento de bactérias desnitrificantes. Para este fim, as ZHAs de macrófitas de escoamento subsuperficial são os mais adequados. A desnitrificação tem um espectro alargado de atuação, podendo ocorrer em variadas temperaturas, durante todo o ano e mesmo em climas mais frios (Vymazal, 2002). Não obstante, vários estudos apontam que a eficiência de remoção de azoto toma valores mais elevados para períodos mais quentes (Kuschik, *et al.*, 2003; Akrotos, *et al.*, 2007).

Vários estudos demonstraram que a oxigenação da rizosfera nestas ZHAs é insuficiente e, deste modo, a incompleta nitrificação é tida como a grande responsável

pela limitada remoção de azoto nestes sistemas (Brix, *et al.*, 1990; Vymazal, 2007, citado por Vymazal, 2008). Para aumentar estas taxas, pode aplicar-se cargas hidráulicas mais reduzidas, o que leva áreas de implantação maiores (Galvão, 2009), e usar-se tempos de retenção elevados (Oliveira, 2007).

Tal como grande parte dos processos microbianos, a remoção deste poluente torna-se mais eficiente em valores de pH próximos da neutralidade e aumenta com o aumento do tempo de retenção hidráulica, sendo este último um fator essencial no grau de desnitrificação obtido (Dias, 1998). A Figura 12 sintetiza as transformações de azoto em zonas húmidas artificiais.

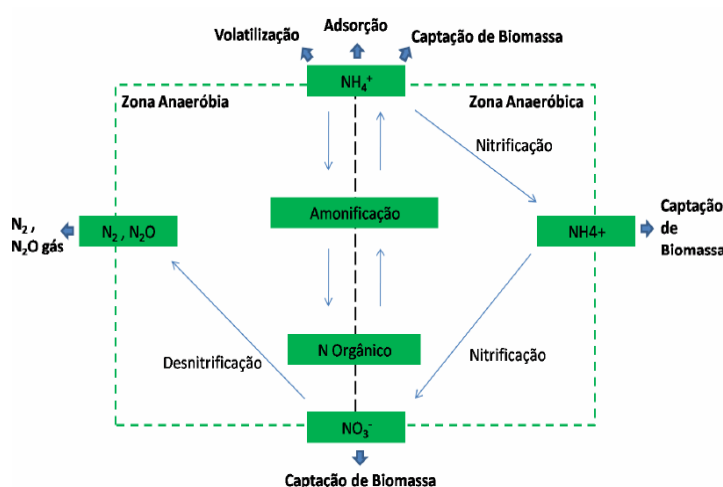


Figura 12- Evolução do azoto em leitos de macrófitas (Simões, 2009).

Convém referir, que todos ou quase todos os processos de remoção de compostos de azoto que ocorrem nas ZHAs se devem não só à comunidade microbiana presente, mas também à presença das plantas e à relação de simbiose que ocorre entre plantas e microrganismo. A remoção de alguns destes compostos nomeadamente o nitrato e o azoto amoniacal podem ocorrer por fitoextração através do sistema radicular das plantas, através da produção de enzimas ou outras substâncias os exsudados das raízes, que são necessárias para que estas reações ocorram, no interior das plantas, ou na matriz do substrato.

3.2 Remoção de boro

O boro (B) é um composto inorgânico, semimetal, é solúvel na água e causa problema ambientais, especialmente nas águas superficiais devido às escorrências agrícolas, dada a sua utilização estar bastante associado aos fertilizantes e pesticidas. A

sua presença pode causar toxicidade nas culturas e nas plantas, contaminação de substratos e/ou sedimentos e, ainda produzir riscos para a saúde pública e para os animais. As formas sob as quais os compostos de boro se encontram presentes nas águas residuais são bastante variáveis dependendo do pH da água e a concentração destes compostos. Ou seja, em elevadas concentrações, superior a 50 mg B /L, $\text{pH} \leq 10$, o boro encontra-se essencialmente sob as formas de triborato ($[\text{B}_2\text{O}_3(\text{OH})_5]^{2-}$), tetraborato ($[\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4]^{2-}$). No entanto, em baixas concentrações (inferiores a 4,8 mg B/L), encontra-se essencialmente sob a forma de ácido bórico (H_3BO_3), ião borato ($\text{B}(\text{OH})_4^-$) e o óxido de boro (B_2O_3) (Turker *et al.*, 2014).

O ácido bórico é considerado um ácido muito fraco e apresenta uma solubilidade moderada. Entretanto, tem a propriedade de se combinar com certas substâncias orgânicas que apresentam na sua constituição molecular mais de um grupo hidroxílica, formando ácidos complexos e mais fortes do que o ácido bórico. O comportamento ácido bórico em solução aquosa depende de outros parâmetros, nomeadamente a temperatura, pH e a presença de outros compostos químicos (Meneses, 2011). A reação química que traduz a dissociação do ácido bórico, está apresentada na equação 1 e na Figura 13 (Meneses, 2011).

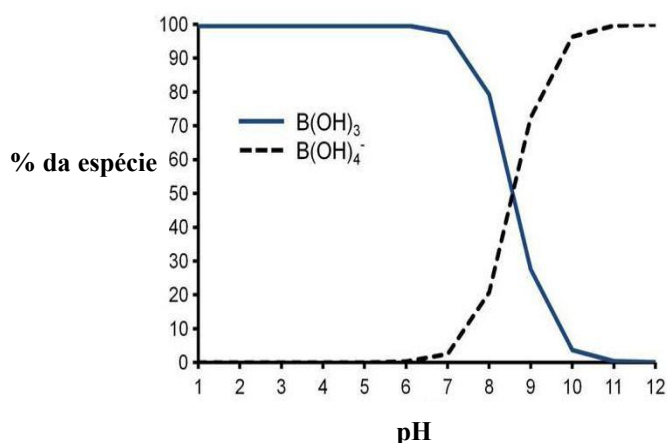
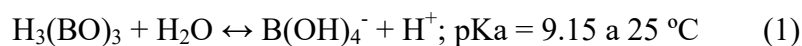


Figura 13 - Variação do pH com a percentagem da espécie em solução aquosa (Mavioso, 2010).

A presença de sais orgânicos pode aumentar ou diminuir a solubilidade do ácido bórico em água. Tanto o cloreto de potássio como os sulfatos de sódio e de potássio aumentam a solubilidade. Em contrapartida, diminui com a presença dos cloretos de sódio e lítio (Meneses, 2011).

Até o momento, os estudos indicaram que os processos responsáveis pela remoção de B são: adsorção e absorção de plantas. No entanto, fatores ambientais como pH, taxa de transpiração, temperatura, composição da solução e de espécies concorrentes, tempo de retenção hidráulica, meios de filtração (substratos) e fatores operacionais também são fatores importantes no processo de remoção de B em ZHAs (Kröpfelová *et al.*, 2009). O boro pode ser retido em sedimentos ou meios através da ligação à matéria orgânica, adsorção a óxidos de ferro e sedimentos textura finos presentes no meio (Bonanno, 2011; Allende *et al.*, 2012). A capacidade de adsorção de boro em sedimento foi diretamente relacionada ao teor de matéria orgânica e apresentou efeito positivo quando o teor de matéria orgânica aumentou. O que leva a afirmar que matéria orgânica pode, assim, ser o mecanismo chave para remoção de B nas ZHAs (Allende *et al.*, 2012). O boro desempenha um papel fundamental no mecanismo de captação e translocação, ou seja, o mecanismo denominado por Fitoextração. O boro é absorvido a partir da solução pelas raízes, principalmente sobre a forma de ácido bórico, e então pode ser transportado para as folhas da planta (Türe & Bell, 2004).

4. Toxicidade de Azoto e Boro nas plantas

4.1 Toxicidade de Azoto nas plantas

As plantas existentes nas ZHA necessitam de nutrientes para o seu crescimento e reprodução, a forma de incorporação do azoto na biomassa é a assimilação. O azoto pode encontrar-se nas folhas, grãos, tecidos e raízes de plantas, faz parte da constituição química dos aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos (DNA e RNA), clorofila, etc. Devido à sua localização nas células, algumas destas moléculas podem ter funções importantes, nomeadamente de catalisador biológico, atividade fotossintética, transcrição da informação genética e função estrutural (Taiz & Zeiger, 2002).

Quando existe azoto em excesso, ocorrem desenvolvimentos vegetativos luxuriantes que se traduzem por desequilíbrios nutritivos, devido à facilidade com que as plantas absorvem azoto para além das suas necessidades metabólicas, com consequências negativas na produção final.

Os sintomas de toxicidade incluem clorose das folhas, supressão de crescimento, alteração da morfologia da raiz, diminuição da fotossíntese, desequilíbrio iónico nas

células e alteração dos constituintes celulares (por exemplo: aminoácidos e açúcares) (Britto & Kronzucker, 2002). Apesar dos graves problemas causados pelo excesso de azoto amoniacal nas plantas, as causas e os mecanismos envolvidos na toxicidade do amônio em plantas, estão longe serem totalmente compreendidos, embora vários mecanismos tenham sido sugeridos por diversos autores. Alguns dos mecanismos propostos para a toxicidade pelo azoto amoniacal englobam a remoção de prótons associada com a assimilação de NH_4^+ , alteração do pH do citosol, deslocamento de cátions cruciais, tais como K^+ e Mg^{2+} , mudanças no estado dos hidratos de carbono nas plantas e o desacoplamento da fotofosforilação (Kronzucker *et al.*, 2001). Teores elevados de azoto amoniacal podem inibir o crescimento ou, mesmo conduzir à morte das várias espécies de plantas. A toxicidade do azoto amoniacal em solução depende do tipo de planta, da composição do afluente e da temperatura.

Apesar de tóxico, o azoto amoniacal é a principal fonte de azoto geralmente utilizada, além do nitrato e ureia. Porém, por questões energéticas, o azoto amoniacal é mais facilmente assimilado que o nitrato, pelo que é a forma preferida por muitas espécies de plantas. Isto não invalida que o nitrato não seja assimilado, pois quando esta é a forma que predomina será então utilizado como fonte de azoto assimilável, a preferência por uma ou outra forma de azoto depende da espécie de planta utilizada (Miller & Cramer, 2005).

O azoto amoniacal pode ser diretamente absorvidos pelas raízes das plantas ou como resultado da redução do ião nitrato; é incorporado nos aminoácidos pelas enzimas que sintetizam a glutamina, a *glutamina sintetase* e subsequentemente convertido em ácido glutâmico, pela ação de outra enzima a *glutamato sintetase*, originando a glutamina, glutamato ou outros aminoácidos. Essas duas enzimas contribuem para a assimilação da maioria do azoto amoniacal (Miller & Cramer, 2005).

Em alternativa, o nitrato e o azoto amoniacal podem ser transportados por transportadores específicos e armazenados nos vacúolos, para posteriormente serem reduzidos no citosol da célula ou serem translocados inalterados para a parte aérea da planta, onde nos colmos e folhas, o nitrato é reduzido a nitrito pela ação da enzima *nitrato redutase*, e o azoto amoniacal, através da enzima *nitrito redutase*. O azoto amoniacal é então incorporado nos aminoácidos, pela ação das enzimas *glutamina sintetase* e *glutamato sintetase*. O azoto amoniacal é tóxico e não pode ser armazenado nas plantas, pelo que é convertido a nitrato, e armazenado no vacúolo das células para posterior redução e utilização (Kinidi & Salleh, 2017).

A capacidade de assimilação de azoto pelas plantas depende do tipo de planta e das condições operárias da ZHA, assim como da forma de azoto disponível. Existem na literatura várias referências à quantidade de biomassa produzida, bem como à quantidade de azoto incorporado. A assimilação pela biomassa microbiana é processo através do qual o azoto amoniacal é assimilado pela comunidade microbiana heterotrófica presente, como fonte de nutrientes. O azoto incorporado na biomassa microbiana geralmente representa 0,5-3,0% do azoto total, retrata uma parte importante no ciclo do azoto. Os microrganismos são responsáveis por uma grande parte dos processos que ocorrem na ZHA, pelo que utilizam azoto orgânico ou inorgânico para a sua síntese e crescimento celular. Este azoto pode retornar ao sistema, quando ocorre o decaimento da biomassa microbiana, sendo posteriormente convertido a azoto amoniacal (Almeida, *et al.*, 2012).

A deficiência do teor em azoto inibe o crescimento das plantas e, se tal persistir, podem tornar-se amarelas, especialmente as folhas mais velhas, próximas da base e ocorrer a desintegração dos cloroplastos e a perda de clorofila. As plantas ficam todas amarelas ou acastanhadas. Quando a carência de azoto é um processo lento, as plantas podem ficar com os caules mais lenhosos, devido ao excesso de açúcares, não utilizados para a síntese dos aminoácidos e proteínas. Estes açúcares podem ser usados na síntese das antocianinas, conduzindo a um aumento deste pigmento em plantas deficitárias em azoto. Estas plantas podem então apresentar uma cor púrpura nas folhas, pecíolo e caule (Taiz & Zeiger, 2002).

4.2 Toxicidade de boro nas plantas

De todos os nutrientes, a função do boro é a menos conhecida. O conhecimento sobre a exigência dos nutrientes provém de estudos sobre o que acontece à planta na ausência deste ou na aplicação do micronutriente após condições de deficiência (Marschner, 1995), porém, estudos mais recentes têm-se vindo a comprovar que a relevância deste elemento na produção está relacionada não só com a deficiência, mas também com o seu excesso (Silva, 2007).

A presença de boro nas plantas interfere com uma serie de processos fisiológicos tais como: transporte de açúcares, síntese e estrutura da parede celular, lignificação,

respiração, metabolismo de hidratos de carbono, metabolismo de RNA, compostos fenólicos, fixação de azoto e a diminuição da toxicidade do alumínio (Alves, 2009).

O boro atua na biossíntese da parede celular, auxiliando o cálcio (Ca) na deposição e formação de sais que formam partes destas estruturas. É de salientar, que as plantas que apresentam maior exigência em B são aquelas que contêm maior quantidade de B complexados na parede celular. Quando o boro está presente em baixas concentrações na planta, a maior parte do nutriente contido nas células, acerca de 95%, está localizado na parede celular, associado a pectinas (polissacarídeos estruturais), outra importante função do B é a manutenção da integridade da membrana plasmática, que está associada a sua habilidade em se ligar a componentes com configurações *cis*-diol (composto orgânico contendo dois grupos hidroxila (-OH)), tais com glicoproteínas e glicolípidos. Acredita-se que o transporte de alguns nutrientes, como o potássio (K⁺) e o fósforo (P) pela membrana celular é inibido na ausência de boro (Bologna, 2003).

O boro é absorvido principalmente sob a forma de ácido bórico. A absorção do nutriente por parte do sistema radicular é influenciada por fatores bióticos e abióticos, tais como: espécie vegetal, tipo de substrato, matéria orgânica, teor de B no substrato, pH e espécie iônica presente na solução do substrato. Entre os fatores relacionados ao substrato, o pH é o que tem maior influência na absorção do nutriente pelas plantas (Alves, 2009).

Existe ainda incertezas, por parte da comunidade científica, sobre a absorção do boro, se é um processo ativo (com gastos energéticos, contra o gradiente de concentração) ou passivo (sem gastos energéticos, a favor do gradiente de concentração). Alguns autores sugerem que a absorção do boro pelas plantas superiores é um processo passivo, não-metabólico, que age em resposta à concentração externa de ácido bórico, à permeabilidade da membrana, com a formação de ligações B-*cis*-diol com açúcares e outros compostos polihidroxílicos do citoplasma, como a força motora para a entrada dos elementos na célula (Alves, 2009).

O boro é um elemento de baixa mobilidade de redistribuição na planta. Está comprovado que as plantas em estado inicial de crescimento absorvem este micronutriente com maior intensidade do que as plantas adultas, sendo pequena a redistribuição dos tecidos velhos para jovens. A falta de redistribuição ou redistribuição insuficiente tem as seguintes consequências:

- Sintomas de deficiência ocorrem em tecidos em crescimento (ou seja, em tecidos novos) – meristemas² vegetativos e reprodutores;
- Toxicidade do boro expressa-se nas folhas mais velhas;
- Há uma acumulação do boro no tecido com a idade (Sousa, 2009).

A deficiência do boro causa muitas alterações anatômicas, fisiológicas e bioquímicas nas plantas, porém a maioria dessas mudanças provavelmente são decorrentes de efeitos secundários da deficiência. As principais causas para a ocorrência da deficiência do boro são: baixas concentrações no substrato, substratos formados a partir de rochas ígneas ácidas ou rochas sedimentares, baixos teores de matéria orgânica, utilização excessiva de fitofármacos azotados (Bologna, 2003).

As plantas superiores necessitam de um fornecimento contínuo de boro para o seu crescimento, esta situação justifica-se devido à concentração encontrada deste micronutriente na parede celular. Devido à imobilidade e ausência de redistribuição por parte deste nutriente, a sua deficiência tem um impacto diretamente sobre a estrutura, crescimento e divisão celular, sendo que a morte dos tecidos dos órgãos reprodutores é um dos sintomas mais comuns da escassez do boro (Ferreira, 2014). Os outros efeitos metabólicos da sua deficiência ocorrem como consequência dos danos estruturais e da inibição do crescimento da planta.

Apesar de deficiência de boro ter um impacto diretamente sobre as células, os sintomas de deficiência ocorrem inicialmente nas raízes, porém a detecção deste sintoma inicial é dificultada devido à localização das raízes no substrato (Pinho, 2008).

²**Meristema** é um tecido vegetal responsável pelo crescimento da planta e pela formação de outros tipos de tecidos vegetais.

5. Material e métodos

5.1 Composição dos afluentes utilizados

Neste trabalho foram utilizados dois afluentes sintéticos preparados com teores de azoto total a variar de 20 até 86 mg/L, e com duas concentrações de boro, bastante elevadas, de 15 e 30 mg/L. Estes afluentes foram preparados, no caso do afluente azotado, com a adição de NH_4Cl e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ como fonte de azoto e para o outro foi utilizado H_3BO_3 com fonte de boro. Adicionou-se ainda a cada um dos afluentes a solução de Hoagland (KNO_3 , Na_2HPO_4 , $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , CaCl_2 , MgCl_2 , FeSO_4 e $\text{C}_2\text{H}_2\text{NaO}_2$) com meio nutritivo.

5.2 Instalação piloto das ZHAs utilizadas

As ZHAs utilizada neste trabalho experimental foram instaladas na ESAB em Maio de 2009, sendo a matriz de suporte (substrato) composta por agregados leves de argila expandida do tipo (Leca[®] NR 10/20). A instalação piloto era composta por cinco ZHAs com idêntica área superficial, iguais denominados 1, 2, 3, 4, 5. As ZHAs tinham uma altura de material de enchimento de cerca de 70 cm, com exceção da ZHA 2, cuja altura era de 35 cm, uma inclinação de fundo de 2%, para um bom escoamento hidráulico. O sistema de drenagem de cada ZHA era constituído por válvula de saída protegida internamente por uma camada de brita, para evitar entupimentos com material de pequena dimensão (Figura 14). As ZHA tinham capacidade de operar em série ou paralelo, mas nestes ensaios operaram só em modo paralelo ou individualmente.

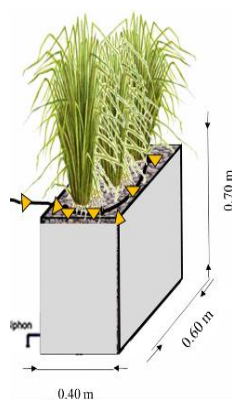


Figura 14- Esquema de um dos cinco leitos piloto da ZHA plantada com *Vetiveria zizanioides* (Almeida, et al., 2018)

A alimentação das ZHAs foi efetuada em modo contínuo, a partir de um reservatório de (125 L), usando bombas submersíveis (Eheim-2400, Deizisan, Alemanha). O afluente foi distribuído através de dispersores equidistantes à superfície de cada uma das ZHA (Almeida *et al.*, 2018). Os ensaios decorreram de Março a Julho de 2018.

5.3 Remoção de compostos de azoto

O principal objetivo foi o estudo dos mecanismos de remoção de azoto amoniacal dado ser esta uma das principais formas em que o azoto está presente em alguns afluentes. Foi ainda objetivo desta parte do trabalho avaliar o efeito da profundidade das ZHAs sobre a remoção de azotados.

Foram utilizadas duas ZHAs de escoamento vertical, com profundidades diferentes, a ZHA 1 ($0,24 \text{ m}^2 \times 0,70 \text{ m}$) e a ZHA 2 ($0,24 \text{ m}^2 \times 0,35 \text{ m}$) (Figura 15).

Os ensaios foram planeados de acordo com o indicado no Quadro 2.

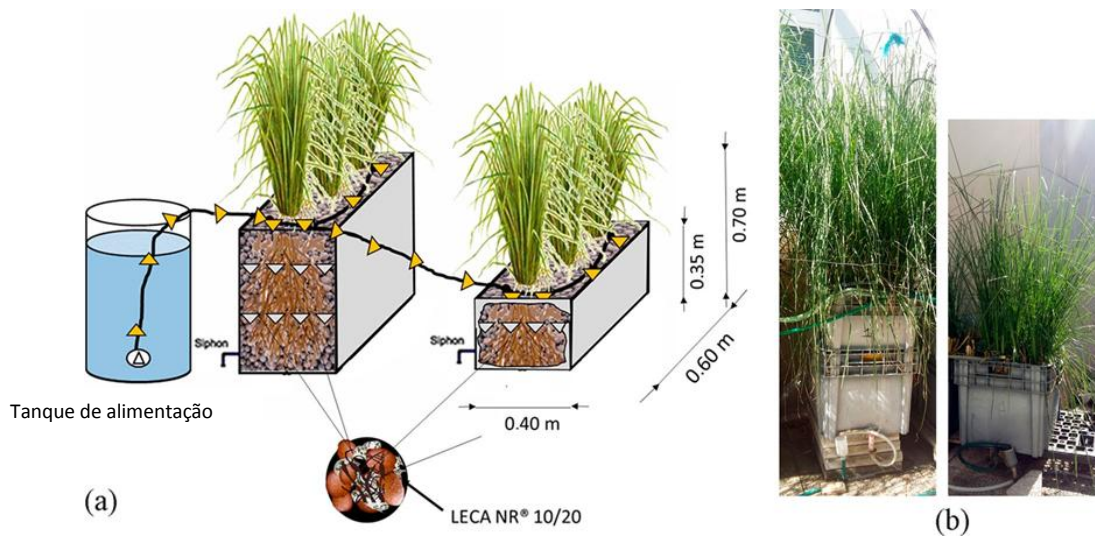


Figura 15- Representação esquemática (a) e (b) do sistema de ZHAs, composto por duas ZHAs com alturas diferentes (ZHA 1 ($0,24 \text{ m}^2 \times 0,70 \text{ m}$) e a ZHA 2 ($0,24 \text{ m}^2 \times 0,35 \text{ m}$)) (Almeida, *et al.*, 2018).

Os ensaios com a Ch menor realizaram-se em primeiro lugar e entre cada ensaio, as ZHAs foram aclimatadas para a nova carga hidráulica e concentração de azoto.

Quadro 2 - Condições operatórias utilizadas e características dos afluentes às ZHAs 1 e 2.

	Ensaio Nº	Ch (L/m ² .dia)	NT (g/m ² .d)	[N-NH ₄ ⁺] (mg/L)
21 de Março a 23 de Maio	1	93±6	3±1	20±3
24 de Maio a 06 de Julho	2	172±7	7±1	20±7
09 de Julho a 25 de Julho	3	170±7	17±1	86±2

(Média ± Desvio-Padrão)

5.4 Remoção de boro

Com estes ensaios pretendeu-se avaliar a possibilidade de remover boro e interferência da matéria orgânica, dado que este elemento ou composto de boro ter sido detetados recentemente em algumas águas de superfície e residuais com teores muito distintos. Utilizaram-se 3 ZHAs idênticas (3, 4 e 5) como se pode observar na Figura 16. Os ensaios decorreram de Junho até ao final de julho, foram planeados de acordo com o indicado no Quadro 3.

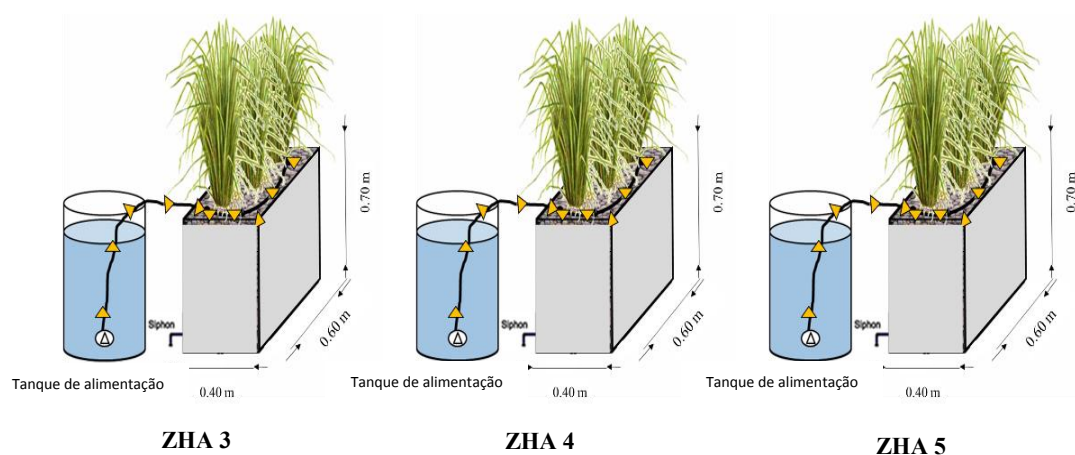


Figura 16 - Esquema do sistema piloto composto por *Vetiveria zizanioides* com a respetiva identificação das ZHAs (Almeida, *et al.*, 2018).

Quadro 3 – Condições operatórias utilizadas e características dos afluentes às ZHAs 3,4, 5.

	Ensaio Nº		Ch (L/m ² d)	CQO (mg/L)	[B] (mg B/L)
06 de Junho a 22 de Junho	A 1	ZHA 3	184±10	90±11	-
22 de Junho a 26 de Julho	A 2		191±8	90±11	-
06 de Junho a 22 de Junho	B 1	ZHA 4	188±4	90±11	30±1
22 de Junho a 26 de Julho	B 2		193±11	90±11	15±1
06 de Junho a 22 de Junho	C 1	ZHA 5	188±9	-	30±1
22 de Junho a 26 de Julho	C 2		188±8	-	15±1

(Média ± Desvio-padrão)

5.5 Monitorização geral do sistema

O sistema foi sempre monitorizado, durante o período de realização dos ensaios, de segunda a sexta, por volta das 10 horas da manhã. As leituras da temperatura no interior da ZHA, foram efetuadas com um termómetro colocado seu interior, mediu-se também a temperatura do ar com um termómetro colocado numa parede junto às ZHAs. No início de cada ensaio era fixado um valor para o caudal de alimentação dependendo da Ch com que se pretendia trabalhar. As medições de caudal, na entrada e saída de cada ZHA, foram efetuados manualmente, numa válvula colocada à entrada de cada ZHA e no sifão de saída dos líquidos, com auxílio de um cronómetro.

As amostras de efluentes foram recolhidas na entrada e saída de cada uma das ZHAs. Estas amostras foram transportadas para o laboratório e analisadas para determinação de pH, condutividade elétrica (CE), potencial redox (Eh), oxigénio dissolvido (OD). Para determinar os restantes parâmetros, quando não foi possível analisá-los de imediato, foram armazenadas as alíquotas e conservadas a -20°C, por curtos períodos de tempo. Determinou-se o azoto amoniacal (N-NH₄⁺), nitrito (N-NO₂⁻), nitrato (N-NO₃⁻) e boro (B), de acordo com o indicado em *Standard Methods of Analysis* (1995)

A observação visual do sistema foi efetuada com o objetivo de detetar eventuais efeitos de toxicidade nas plantas. O crescimento das plantas foi através de marcação e medições, no início de cada ensaio. Também se recolheram amostras da biomassa foliar, para posterior determinação do teor de azoto, humidade, clorofilas (*a*, *b*, *totais*) e

carotenoides. Foi ainda determinada a composição mineral e de nutrientes, nomeadamente o teor de cálcio (Ca^{2+}), magnésio (Mg^{2+}), sódio (Na^+), potássio (K^+), o fósforo (P) e azoto (N) de acordo com Horneck & Miller, (1998). A metodologia seguida encontra-se descrita no Anexo II e III.

5.6 Tratamento de dados e análise estatística

Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente pelo programa Microsoft Excel 2013. Em todas as figuras (gráficos) foram obtidas através de valores médios e desvio - padrão (média \pm D.P), para as diversas determinações. Quando necessário foi usado o software “Statistica 12,0”(StatSoft, Inc., EUA).

6. Resultados e Discussão

6.1 Remoção de compostos de azoto

6.1.1 Efeito da temperatura

A temperatura do ar, foi monitorizada e nos ensaios observou-se uma grande amplitude térmica: o máximo foi aproximadamente de 31°C e um mínimo de 22°C (Figura 17). Enquanto a temperatura do substrato apresentou uma amplitude térmica menor, ou seja, aproximadamente 20°C.

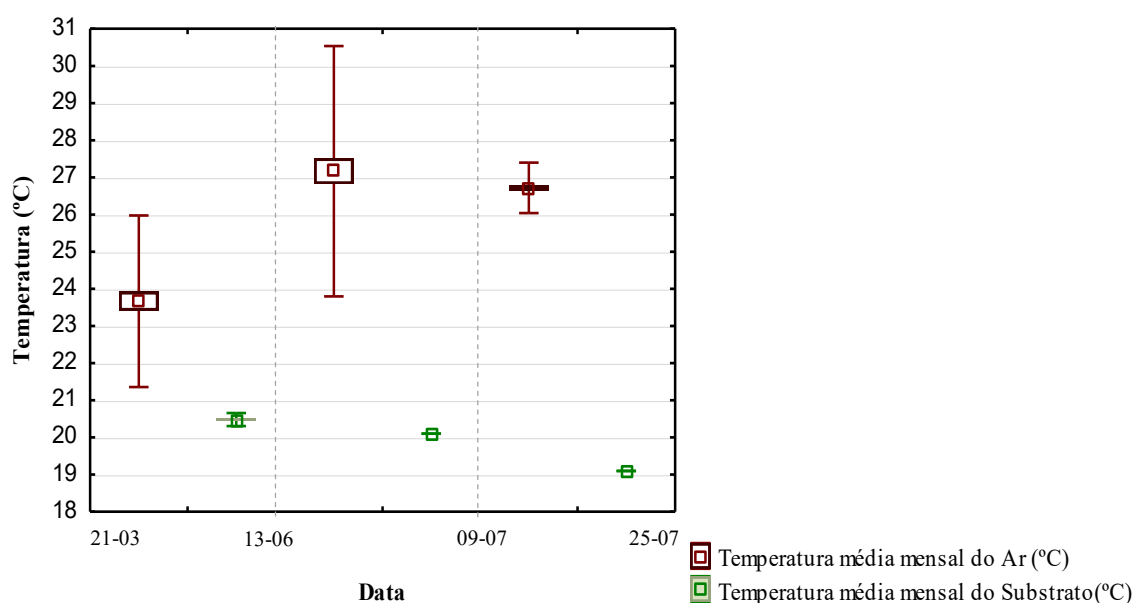


Figura 17 - Temperatura do ar observada durante os ensaios, desde março até julho.

A temperatura é conhecida com um fator importante no desempenho das ZHAs, ou seja, na remoção do azoto uma vez que estes processos são dependentes da atividade microbiana e da presença de biomassa vegetal. Assim, o crescimento das plantas e a taxa fotossintética depende das águas residuais e da temperatura local, que interferem com a remoção de azoto (Liu *et al.*, 2017). De acordo com Stefanakis & Tsihrintzis, (2012), a matéria orgânica e a remoção de azoto, de um afluente nas ZHAs de Fluxos Verticais alimentados em modo intermitente, foi favorecido pelo aumento da temperatura. No entanto, existem algumas controversias sobre a influência da temperatura sobre o desempenho do sistema. Prochaska *et al.*, (2007), estabeleceu que a nitrificação em ZHA de Fluxo Vertical ocorre com temperaturas próximas de 7°C, mas Cooper (2005) e Prochaska *et al.*, (2007) afirmaram que as temperaturas mínimas para a produção de nitritos varia de 4°C a 5°C. É importante referir que as temperaturas elevadas, o OD tem tendência a diminuir, o que pode contribuir para diminuição da remoção de azoto amoniacal.

Neste estudo, a temperatura mínima do ar atingiu os 21°C, tendo em conta que foi referido por Prochaska *et al.*, (2007), que a temperatura não interferiu negativamente com o desenvolvimento da comunidade microbiana. Em relação a *Vetiveria zizanioides*, Dudai *et al.*, (2006), as condições mediterraneas observadas, como a temperatura do ar >15-23°C e dias longos, influência o crescimento das plantas e, consequentemente, o aumento da absorção de azoto pelas plantas (Figura 17 e 18).

6.1.2 Crescimento das plantas

Nestes ensaios nota-se alguma alteração devido à carga de azoto aplicada, durante o período de realização destes ensaios, as plantas cresceram muito bem sem sintomas evidentes de toxicidade ou deficiências de nutrientes. Os resultados mostram um padrão de crescimento semelhante em ambas ZHAs.

As plantas foram cortadas no início dos ensaios, de 21 de Março a 25 de Julho. O crescimento verificado foi de $93,2 \pm 11$ e $76,5 \pm 10$ cm, para o ZHA 1 e ZHA 2 (Figura 18).

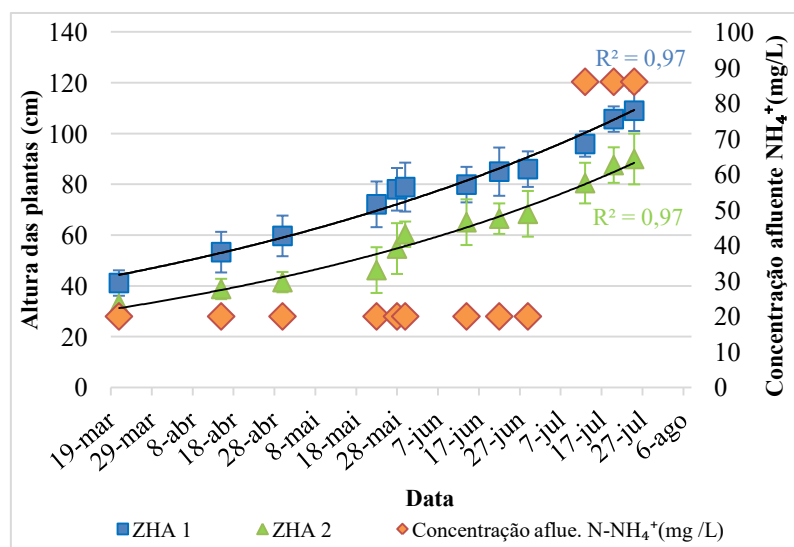


Figura 18- Crescimento da *Vetiveria zizanioides* na ZHA 1 e na ZHA 2.

Como já foi referenciado anteriormente, existem alguns fatores com sendo capazes de interferir com o crescimento das plantas das ZHAs, ou seja, os excessos de azoto amoniacal, que podem causam a redução de fotossíntese e da absorção de nutrientes pelas plantas, assim as plantas podem mostrar vários sintomas de toxicidade, como Clorose, inibição de crescimento e até a morte. Tem sido aceite, que existem grandes diferenças nas tolerâncias de azoto amoniacal entre pelas várias espécies de plantas (Britto *et al.*, 2002; Esteban *et al.*, 2016). De acordo com diversos autores, são várias as concentrações de azoto amoniacal referidas como tóxicas para as plantas, ou seja de 0,5 a 10 mM (de 7 a 140 mg/L de N-NH₄⁺) (Britto *et al.*, 2002; Piwpuan *et al.*, 2014). Tarvorasak *et al.*, (2016), observaram que a concentração de azoto amoniacal de 10 e 15 mM (de 7 a 210 mg/L de N-NH₄⁺), inibiu o crescimento das plantas e do comprimento das raízes. No entanto, Li *et al.*, (2011), referiram que a *Typha angustifolia* não foi afectada quando a concentração de N-NH₄⁺ foi inferior a 28 mM (400 mg/L de N-NH₄⁺).

A Condutividade electrica (CE) é muitas vezes referida como inibidor do crescimento das plantas (Thruong, 2002; Deifel *et al.*, 2006; Klomjek *et al.*, 2005). O valor da CE do afluente variou de $0,6 \pm 0,1$ a $1,1 \pm 0,2$ mS/cm, valor inferior a 8 mS/cm, referido como tóxicos para o crescimento da *Vetiveria zizanioides* (Thruong, 2002; Deifel *et al.*, 2006).

Neste trabalho, foram estudadas duas concentrações de azoto amoniacal (20 ± 3 mg/L e 86 ± 2 mg/L), que combinadas com duas Ch diferentes (de 93 ± 6 L/m².d e 172 ± 7 L/m².d), deram origem a três cargas de azoto amoniacal diferentes. Portanto, o crescimento das plantas foi analisado em função da carga aplicada de azoto amoniacal. Pode-se concluir que as plantas tiveram um crescimento exponencial em ambas as

ZHAs (com coeficiente de determinação (R^2) de 0,97 para ambas as ZHAs). Em relação a altura da ZHA também é possível concluir que quando a concentração de azoto aplicado aumenta, o crescimento também aumenta, mas sendo o efeito no crescimento menor na ZHA 2. O azoto amoniacal não provocou efeitos fatais no crescimento das plantas (dado o crescimento ter sido exponencial), nem amarelecimento das folhas, contariamente ao observado por Almeida *et al.*, (2018), que observou a paragem de crescimento quando o teor em azoto amoniacal no afluente foi de até 290 mg/L.

Perante os valores distintos de crescimento de cada uma das plantas das ZHAs podemos concluir que a profundidade da ZHA tem uma influência sobre o crescimento das plantas, provavelmente, devido que a ZHA 1 ter mais espaço vertical, o que permitiu que o sistema radicular da *Vetiveria zizaniodes*, que é finamente estruturado tenha crescido rapidamente, também Vymazal (2002), observou que a profundidade da ZHA pode limitar o espaço para o crescimento das raízes das plantas. Os resultados mostram que a carga de azoto amoniacal junto com altura da ZHA foram os factores mais importantes para o crescimento das plantas *Vetiveria zizaniodes*. A actividade de fotossíntese, bem como a actividade da raiz pode resultar em mais libertação de O_2 para a ZHA, contribuido para criação de condições aeróbias que interfere com a remoção de azoto amoniacal através da converção a nitrato.

6.1.3 Composição da biomassa foliar

A concentração de alguns elementos minerais e nutrientes (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , N e P) foi analisada na biomassa vegetal no início e no final dos ensaios (Figura 19). Neste trabalho, por dificuldades operatórias, e apesar de se terem efectuado três ensaios (Quadro 2), apenas foram determinados os nutrientes e os minerais no início dos ensaios, previamente a qualquer tipo de alimentação com afluente azotado e no final de todos os ensaios, dado que a carga de azoto foi sempre crescente.

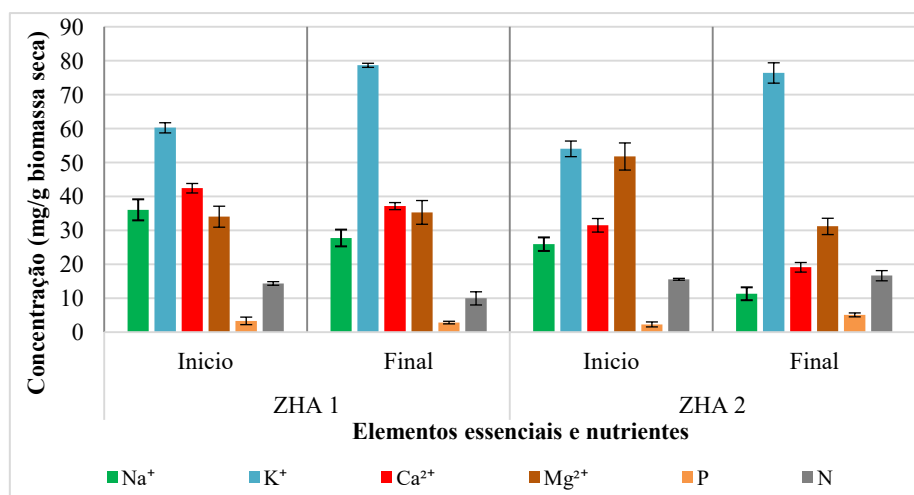


Figura 19- Elementos essenciais (Cálcio (Ca^{2+}), Magnésio (Mg^{2+}), Sódio (Na^+), Potássio (K^+)) e concentração de nutrientes (Azoto (N), Fósforo (P)) nas folhas da *Vetiveria Zizanioides*, no início e no fim dos ensaios na ZHA 1 e na ZHA 2.

Os resultados mostram que as concentrações P nas folhas das plantas da ZHA 1 nunca apresentaram valores significativamente diferentes dos observados na ZHA 2, o K^+ apresentou tendência para o aumentar devido à exposição das plantas a afluentes com concentrações de N-NH_4^+ até $86 \pm 2 \text{ mg/L}$, sem se notar o efeito da profundidade sobre esse ião.

As concentrações de Ca^{2+} , Mg^{2+} e Na^+ apresentaram tendência para diminuir devido à exposição ao azoto amoniacal. Relativamente ao P e N, ambos manteve-se praticamente constante nas ZHAs. O que permite concluir que a profundidade não interfere com a assimilação de P e N.

Na figura 20, é possível verificar que a altura da ZHA interfere com o teor e o tipo de clorofilas.

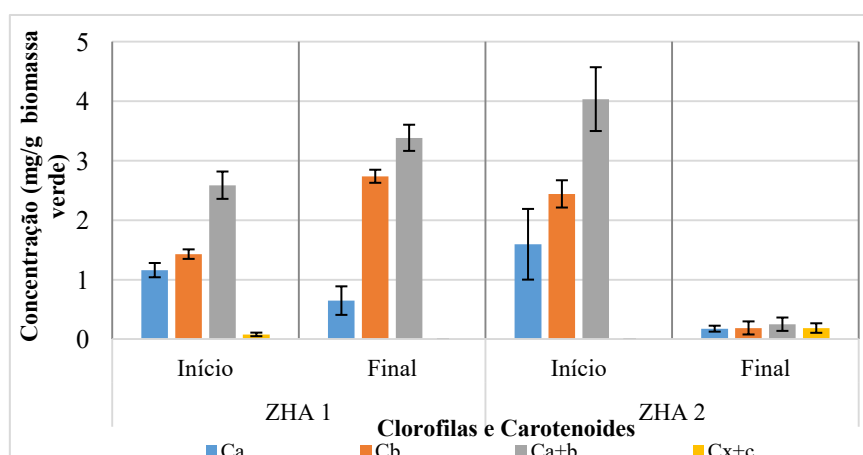


Figura 20 - Concentração de clorofilas *a* (Ca), *b* (Cb), totais (Ca+b) e carotenoides (Cx+c) em mg/g de biomassa verde na ZHA 1 e 2.

É possível observar que a clorofila *a* (Ca) diminuiu ao longo dos ensaios, mais na ZHA 2 que na ZHA 1. As clorofilas *b* (Cb) e a clorofilas *totais* (Ca+b) aumentaram bastante, os carotenoides (Cx+c) diminuíram na ZHA 1 e aumentaram na ZHA 2. Com base nestes resultados foi possível concluir que a concentração de azoto e a profundidade da ZHA interferiu negativamente com as clorofilas *a*, *b* e *totais*, pois na ZHA 2 os valores diminuíram drasticamente.

6.1.4 Influência da carga de azoto amoniacal e da profundidade das ZHAs na variação de pH, condutividade eléctrica (CE) e oxigénio dissolvido (OD)

Através da observação da figura 21(a), constatou-se que o pH no afluente foi praticamente constante, tal como esperado, com um valor médio de $8 \pm 0,6$, durante todo o período experimental. Em ambas as ZHAs, nos ensaios 2 e 3 (7 e $17 \text{ g/m}^2.\text{d}$) observou-se uma diminuição significativa de pH no efluente, isto deveu-se muito provavelmente há ocorrência de nitrificação e a produção de iões de H^+ . Estes valores foram sempre mais elevados na ZHA 2, provavelmente onde a nitrificação foi menor.

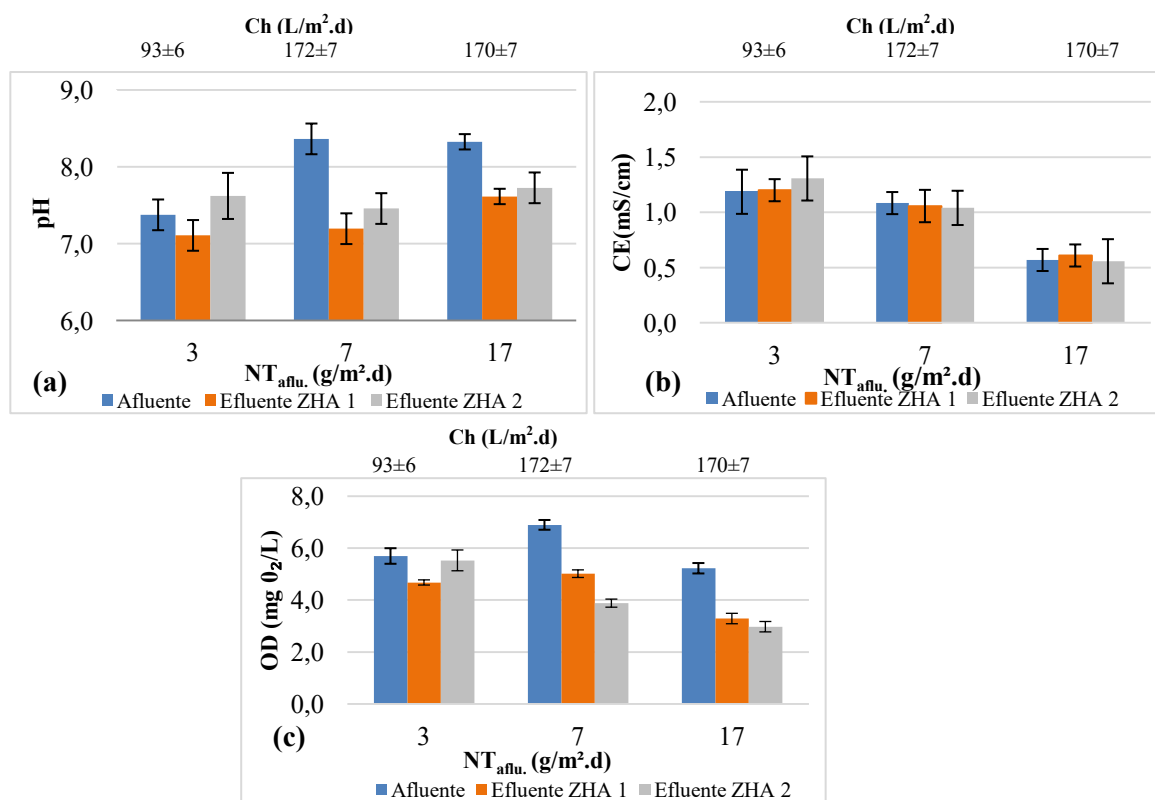


Figura 21 -Variação do pH (a), CE (b) e OD (c) no afluente e efluente na ZHA 1 e na ZHA 2 com a carga de azoto total (NT_{Aflu}) aplicada.

A média da CE no afluente variou de $0,6 \pm 0,1$ a $1 \pm 0,2$ mS/cm (Figura 21b), devido ao aumento da concentração em azoto amoniacal. Não houve diferenças significativas entre afluente e efluente e não ocorreu precipitação de sais no interior dos leitos. A CE é frequentemente associada com a salinidade de águas residuais. A alta concentração de sal impõem stress osmótico na planta (Jampeetong *et al.*, 2009). Segundo Edelstein *et al.*, (2009), o limite de salinidade para a *Vetiveria Zizanioides* em condições ótimas de fertilização é entre 3 e 6 mS/cm. Truong (2002), observou que *Vetiveria Zizanioides* pode sobreviver em substrato salino com CE até 47,5 mS/cm, sendo o seu limite de salinidade até 8 mS/cm e em substratos com valores de CE de 10 e 20 mS/cm o seu crescimento reduzido para 10% e 50%. Neste estudo é possível observar que a CE não apresentou valores problemáticos para o crescimento e desenvolvimento da *Vetiveria zizanioides*.

Relativamente ao OD (Figura 21c) no afluente verificou-se que sofreu variação entre $5,2 \pm 1,5$ e $6,9 \pm 1,5$ mg O₂/L. Embora as condições operacionais aplicadas em ambas as ZHAs fossem idênticas, na ZHA 1 e na ZHA 2, OD no efluente mostrou uma tendência a diminuir em todos os ensaios comparados com o afluente, mais acentuada na ZHA 2. A remoção de azoto amoniacal ocorreu em todos os ensaios, provavelmente por nitrificação, porque é um processo que consome oxigénio. As principais vias de transferência de oxigénio nas ZHAs são a difusão atmosférica e a transferência de oxigénio mediada pela planta. Então o OD, transferido varia com a espécie de plantas e fluxo convectivo do ar dentro dos espaços da matrix do substrato (Nivala *et al.*, 2013; Stein *et al.*, 2005). A ZHA com escoamento subsuperficial vertical é geralmente considerado um sistema altamente aeróbio, já que as águas residuais drenam verticalmente pela matrix plantada, permitindo condições insaturadas e excelentes na transferência de oxigénio.

Yao *et al.*, (2011), verificaram que *Vetiveria Zizanioides* possui elevada capacidade de libertação de oxigénio pelas raízes, o que pode permitir concluir que a extensão do sistema radicular da ZHA (profundidade) interferiu com o teor em OD no efluente.

6.1.5 Avaliação da remoção de compostos de azoto

6.1.5.1 Azoto amoniacal

Como foi referido antes, ambas as ZHAs foram alimentadas a partir do mesmo reservatório (Figura 15), em paralelo e modo contínuo, de acordo com as condições operacionais apresentadas no Quadro 3. Foram aplicadas 3 cargas crescentes de azoto amoniacal, de 3 ± 1 , 7 ± 1 e 17 ± 1 g/m².d em ambas as ZHAs. Os resultados mostram que a remoção de azoto amoniacal (Figura 22) ocorreu em todos os ensaios, com o valores de remoção de 2 ± 1 a $7,1 \pm 1,2$ g/m².d e de $0,7 \pm 0,2$ a 4 ± 1 g/m².d, para a ZHA 1 e 2. Em todos ensaios, os valores médios de remoção de azoto amoniacal formam significativamente diferentes, em ambas as ZHAs. A eficiência de remoção foi sempre maior na ZHA 1. A eficiência de remoção de azoto amoniacal aumentou de 52 ± 1 a $58 \pm 2\%$ e de 36 ± 2 a $43 \pm 4\%$ na ZHA 1 e na ZHA 2. Conforme mostra a Figura 22, a carga de azoto amoniacal removida dependeu da profundidade da ZHA, a ZHA 1 apresentou sempre valores maiores.

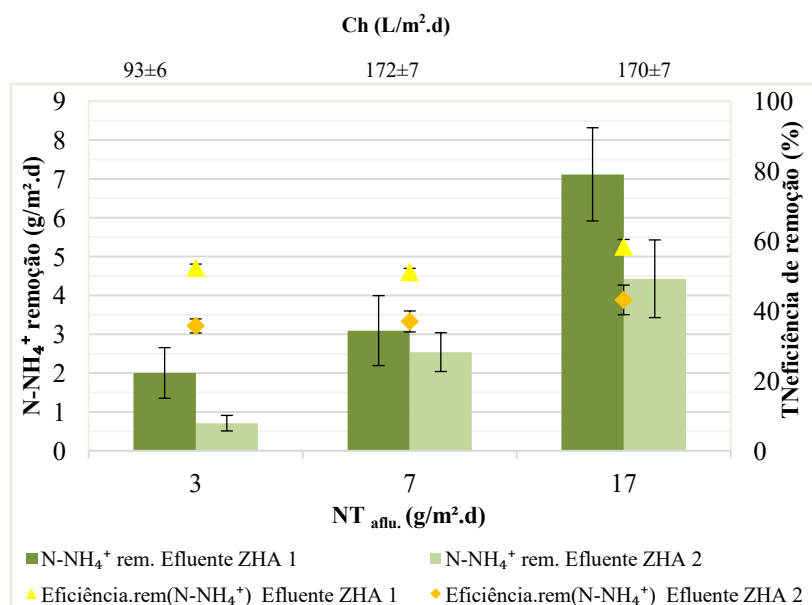


Figura 22 - Remoção de azoto amoniacal e eficiência de remoção na ZHA 1 e 2, relativamente, a carga de azoto total (NT_{Aflu}) aplicada.

Os mecanismos de remoção de N-NH₄⁺ (volatilização, adsorção, nitrificação e assimilação pelas plantas - Fitoextração) podem ser influenciados pelas condições operacionais e parâmetros de projeto, ou seja, temperatura, pH, CE, OD, concentração de azoto amoniacal, Ch, TRH, tipos de plantas existentes nas ZHAs, material do

substrato, profundidade, etc (Saeed *et al.*, 2012; Ren *et al.*, 2011; Kotti *et al.*, 2010; Shi *et al.*, 2018).

A volatilização do amónio depende do pH da água residual, um aumento do pH (pH > 9,3), pode aumentar a alcalinidade da água residual convertendo N-NH_4^+ em NH_3 com a sua consequente libertação. É pouco provável que a volatilização de NH_3 tenha desempenhado um papel importante no processo de remoção de azoto amoniacal em ambas as ZHAs, porque o pH observado foi perto da neutralidade ($8 \pm 0,6$) no afluente e menor no efluente, com um valor médio de $7,5 \pm 0,1$.

Os agregados leves de argila expandida (LECA[®]) são referenciado com frequência, como tendo boa capacidade de adsorção N-NH_4^+ . Bialowiec *et al.*, (2011), usaram duas camadas de agregados leves de argila expandida (camada superior) e cascalho (camada inferior) em escoamento vertical em sistemas de ZHAs e obtiveram 60% de remoção de azoto total. Almeida *et al.*, (2018) e Almeida (2011), usaram agregados leves de argila expandida (LECA[®] NR 10/20) no substrato da ZHA para tratar água residual sintética de suinicultura e concluíram que a absorção de NH_4^+ pelo substrato foi insignificante. O material do substrato usado neste estudo foi o mesmo, podendo-se concluir que não ocorreu a adsorção da amónia.

A presença das plantas é essencial para que ocorra remoção de azoto em ZHAs. As ZHAs em escoamento em modo vertical permitem que o oxigénio flua na vertical, criando na região das raízes zonas com diferentes concentrações de oxigénio, ou seja, aeróbias, anóxicas e anearóbias, permitindo o estabelecimento e desenvolvimento de várias comunidades de microrganismos que realizam a degradação da matéria orgânica, bem como o processo de remoção de azoto. As plantas também aumentam e fornecem carbono através dos exudatos³ e podem excretar enzimas exógenas, processo denominado de fitodegradação, que contribuem para a remoção do azoto (Brix, 1997; Zhang *et al.*, 2014; Peng *et al.*, 2014).

Por outro lado, uma vez que *Vetiveria Zizanioides* possui um sistema de raízes extensas que crescem verticalmente, permitindo diferentes estados de oxidação. Estudos conduzidos por Cheng *et al.*, (2014) e Li *et al.*, (2011), mostraram uma relação entre a produção de biomassa, transferência de oxigénio e remoção de azoto amoniacal da *Vetiveria Zizanioides* como é possível observar na Figura 18, 21c e 22.

³**Exsudato**- É a saída de líquidos orgânicos através das paredes e membranas celulares.

A Ch está relacionada com a carga de azoto, com o TRH e também depende da profundidade/altura da ZHA. Há algumas controvérsias sobre a variação da Ch usada e com o efeito do desempenho da ZHA. Millot *et al.*, (2016), em uma ZHA concluíram quando a Ch e a carga de azoto aumentou, causou diminuição da eficiência de remoção de azoto amoniacal. Kantawanichkul *et al.*, (1999) e Kantawanichkul *et al.*, (2013), usaram uma ZHA plantada com *Vetiveria Zizanioides* em escoamento subsuperficial vertical para tratar águas residuais urbanas e de suinicultura, constataram que quando se aumentou a Ch, a remoção de azoto amoniacal e da matéria orgânica diminuí. Akaratos & Tsihrintzis (2007), em ZHAs de escoamento horizontal, verificaram eficiências de remoção de azoto de 15,3% quando o tempo de retenção hidráulico for maior de 6 dias e acima 70% quando o TRH foi superior a 20 dias, para uma média de concentração do afluente de 38 mg/L de azoto. Zhang, *et al.*, (2011) e Stefanakis & Tsihrintzis (2012), verificaram que em ZHAs de fluxo vertical, o aumento do TRH (Ch diminui) afectou positivamente a remoção do azoto amoniacal devido a um maior tempo de contato de águas residuais com as plantas, raízes e microorganismo. Quando as plantas estão totalmente estabelecidas o fornecimento de oxigénio dentro dos sistemas é melhorado.

Neste estudo, foram usadas duas profundidades diferentes de ZHAs, embora a Ch aplicado e a carga aplicada de azoto tenha sido idêntica. Em cada ensaio realizado nas ZHAs, o TRH foi diferente, sendo que na ZHA 1 foi o dobro da ZHA 2 (variando de $6,6 \pm 1,6$ a $3 \pm 0,4$ h para a ZHA 1 e de $3,2 \pm 0,9$ a $1,5 \pm 0,2$ h para a ZHA 2). A grande diferença de remoção de azoto amoniacal foi observada no último ensaio (na carga de 17 ± 1 g/m².d). No primeiro e no segundo ensaio (com as cargas de aplicadas de 3 ± 1 e de 7 ± 1 g/m².d), foi aplicada a mesma concentração de azoto amoniacal (de 20 mg/L) e fazendo variar a carga hidráulica para o dobro (93 ± 6 para 172 ± 7 L/m².d). E no segundo ensaio para o ultimo (com as cargas de aplicadas de 7 ± 1 e de 17 ± 1 g/m².d) manteve-se a Ch (172 ± 7 e 170 ± 7 L/m².d) e com a variação da concentração de azoto amoniacal (86 ± 2 mg/L) para se poder estudar como varia a eficiência de remoção.

Com base nos resultados obtidos para a remoção de azoto amoniacal, tentou-se avaliar a $[N-NH_4^+]_{\text{efluente}}$ pode relacionar com Ch e $[N-NH_4^+]_{\text{afluente}}$ nas águas residuais da ZHA 1 e da ZHA 2. Foi realizada uma análise estatística de correlação linear multipla de duas variáveis independentes sobre a $[N-NH_4^+]_{\text{efluente}}$ (variável dependente) nas ZHAs em estudo. Com base nos resultados da análise de correlação, no caso da

ZHA 1, constatou-se que a influência da $[N-NH_4^+]_{\text{afluente}}$ interfere na $[N-NH_4^+]_{\text{saída}}$ foi de $R = 0,91$. Os coeficientes de correlação calculados foram testado pelo teste t-student param $p = 0,05$.

Com base nos resultados da correlação linear múltipla, foi desenvolvido o modelo apresentado na Figura 23, a partir da $[N-NH_4^+]_{\text{efluente}}$ da ZHA 1, foi observada. O modelo criado pode ser descrito pela equação da $[N-NH_4^+]_{\text{efluente}}$ (mg/L) = $-0,31 + 0,012 \times Ch + 0,51 \times [N-NH_4^+]_{\text{afluente}}$ (Fig. 23).

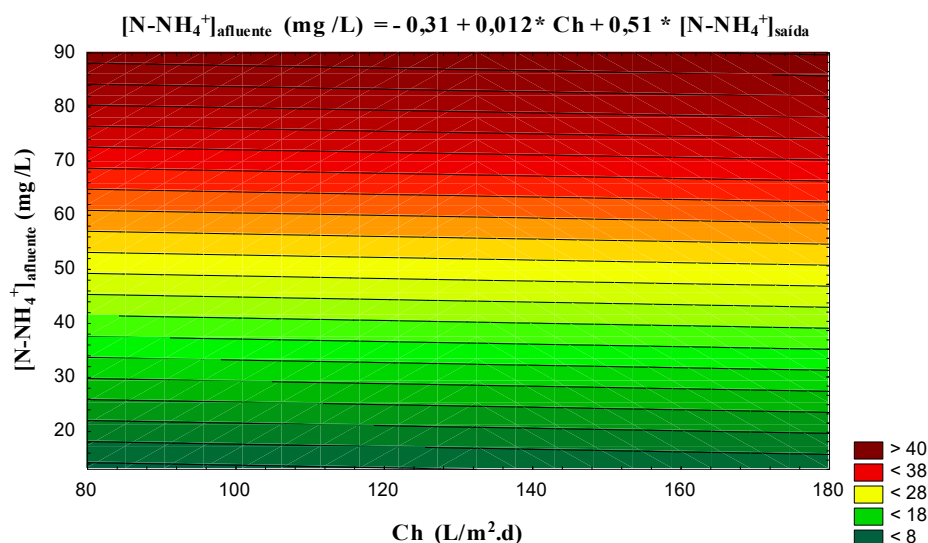


Figura 23 -Nomograma para determinar a $[N-NH_4^+]_{\text{efluente}}$ dependendo da carga hidráulica (Ch) e da $[N-NH_4^+]_{\text{afluente}}$ no afluente da ZHA 1.

No caso da ZHA 2, verificou-se que a influência da $[N-NH_4^+]_{\text{afluente}}$, influência a $[N-NH_4^+]_{\text{efluente}}$. Através de uma regressão linear múltipla, foi possível obter um coeficiente de correlação onde $R = 0,87$, testado com o teste t-student para $p = 0,05$.

Com base nos resultados da correlação linear múltipla, foi desenvolvido um modelo (Fig. 24), $[N-NH_4^+]_{\text{efluente}}$ da ZHA 2. O modelo criado pode ser descrito pela equação da $[N-NH_4^+]_{\text{efluente}}$ (mg/L) = $-2,2 + 0,031 \times Ch + 0,60 \times [N-NH_4^+]_{\text{afluente}}$ (Fig. 24).

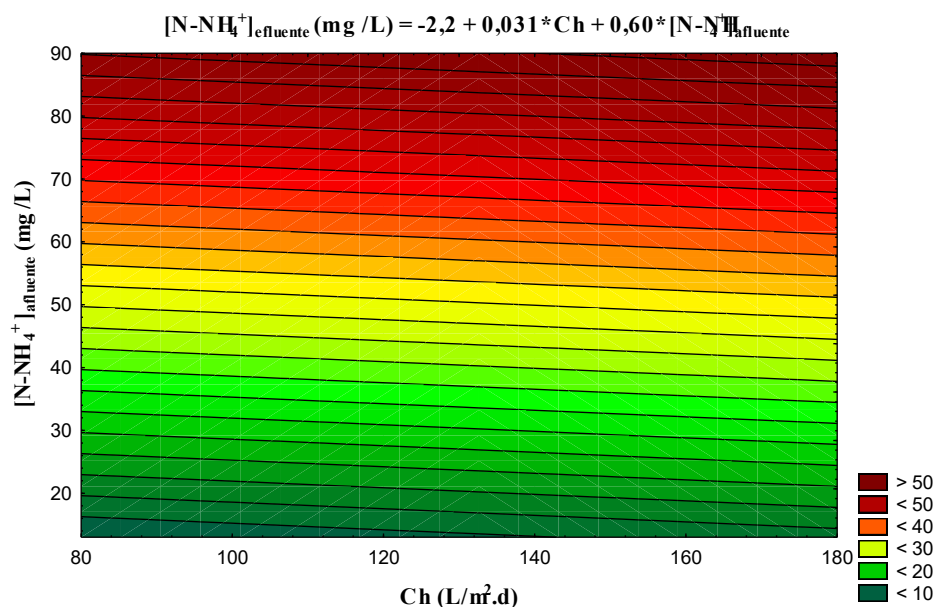


Figura 24- Nomograma para determinar a $[N-NH_4^+]_{\text{efluente}}$ dependendo da carga hidráulica (Ch) e da $[N-NH_4^+]_{\text{afluente}}$ no afluente da ZHA 2.

6.1.5.2 Nitratos e Nitritos

Os resultados obtidos mostram que a carga de nitrato (NO_3^-) e nitrito (NO_2^-) no efluente aumentaram em ambas as ZHA (Figura 25a,b). A carga de nitrato produzida (Figura 25a) foi calculada a partir da subtração entre a carga de nitrato no afluente e no efluente, variou de $0,2 \pm 0,1$ para $0,6 \pm 0,2 \text{ g/m}^2 \cdot \text{d}$ e de $0,4 \pm 0,1$ para $1,3 \pm 1,0 \text{ g/m}^2 \cdot \text{d}$, na ZHA 1 e 2.

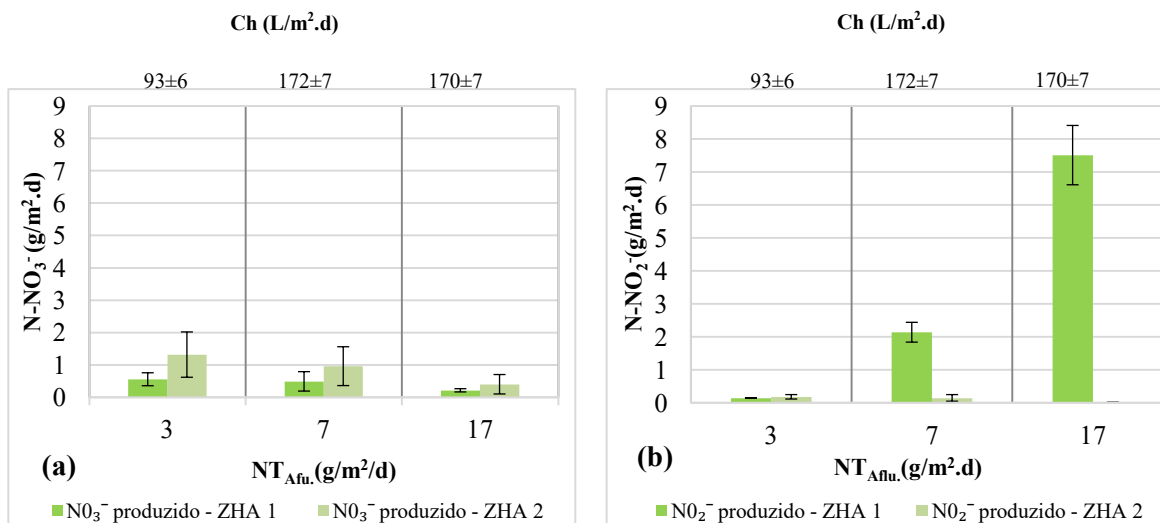


Figura 25 - Variação da carga de Nitrato (a) e Nitrito (b) produzida, em relação, a carga de azoto total ($NT_{\text{Aflu.}}$) aplicada na ZHA 1 e na ZHA 2.

O nitrito é uma forma de azoto instável, é produzido numa primeira parte da oxidação da amónio, e por fim, o nitrito é convertido em nitrato na presença do

oxigénio. Estes processos podem ser interopidos se houver falta de OD ou pequeno TRH, resultado em acumulação de nitrito.

De acordo com Bae *et al.*, (2001), temperaturas superiores à 30°C e pH entre 8 e 9 inibe a oxidação de nitrito (nitrificação). Altas concentrações de azoto livre (NH_3) (0,1 – 10 mg/L) também inibe a eficiência da oxidação de nitrito, contribuindo para a sua acumulação (Zhang *et al.*, 2011). Neste estudo, a temperatura do ar atingiu valores de 31°C, o pH afluente foi próximo da neutralidade ($8 \pm 0,6$) e diminuíram no efluente para valores próximos de 7 (Figura 25a). Então, é pouco provável que esses parâmetros tenham influenciado a acumulação de nitritos no efluente.

Se for realizado um balanço de massa, e se a remoção de azoto amoniacal e carga de nitrato e nitrito produzidos forem consideradas, verifica-se que houve uma diferença entre eles, a remoção de azoto amoniacal foi superior do que a carga de nitrato e nitrito produzida.

Alguns processos através da qual a remoção de azoto amoniacal pode ocorrer, já foram analisados. No entanto, é importante salientar a possibilidade de que outro processo, ainda não mencionado, pode ocorrer. A nitrificação incompleta é quando oxidação anearobia de amónio ocorrer com baixa concentração de OD (processo de anammox) (Sun *et al.*, 2007; Third *et al.*, 2001). Neste estudo, OD diminuiu em ambas as ZHAs. A carga de nitrato produzida em ambas ZHAs, durante o período experimental, sempre foi maior do que o esperado para o processo ocorre-se, como principal mecanismo de remoção de azoto amoniacal. Portanto, pode-se concluir que a nitrificação e subsequente desnitrificação deve ser o principal mecanismo de remoção da carga de nitrito e nitrato.

6.1.5.3 Azoto total

O balanço de massa foi usado para quantificar as contribuições das diferentes vias, através das quais o azoto foi removido e avaliar as transformações do azoto nas ZHAs. O azoto total (NT) foi considerado como a soma de todas as formas azotadas apresentadas, tais como N-NH_4^+ , N-NO_2^- e N-NO_3^- .

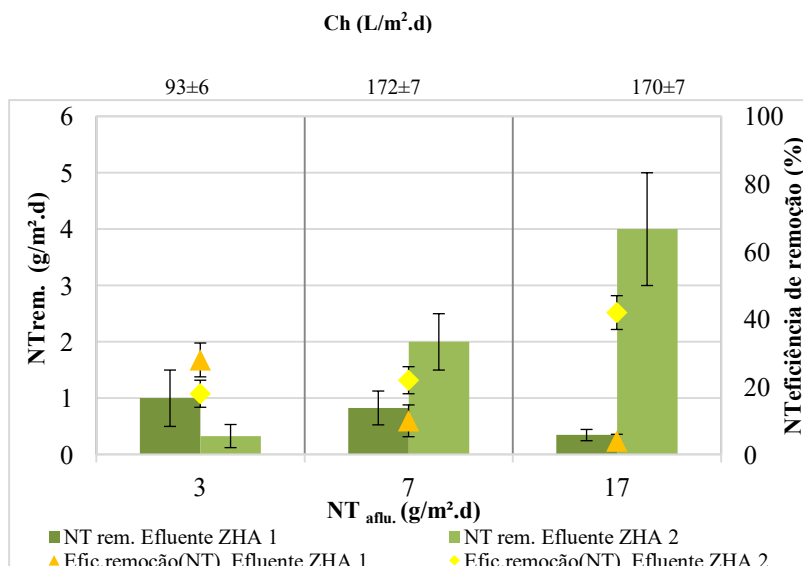


Figura 26 - Remoção de azoto total (NT) e eficiência de remoção, comparativamente, com a carga de azoto aplicada (NT_{Aflu.}) na ZHA 1 e na 2.

De acordo com a figura 26, verifica-se que em ambas ZHAs, ocorreu a remoção de azoto total. A remoção de azoto total variou de $0,3 \pm 0,1$ a $1 \pm 0,5$ g/m².d a que corresponderam eficiência de remoção de 4 ± 2 a $28 \pm 4\%$ na ZHA 1 e de $0,3 \pm 0,1$ a 4 ± 1 g/m².d e eficiência de remoção de 18 ± 4 a $42 \pm 5\%$, na ZHA 2. Os valores obtidos vão de encontro com o estudo Almeida, et al., (2018), que para valores de carga de azoto total até 24 g/m².d e de carga hidraulica até 172 ± 7 L/m².d, não apresentam diferenças significativas ($p > 0.05$).

Nas cargas de azoto total (7 e 17 g/m².d), segundo e terceiro ensaio, foram observadas eficiências de remoção menores na ZHA 1 que na ZHA 2, este fato pode ser enventualmente devido à presença de elevados teores de nitrito (NO₂⁻) no efluente da ZHA 1. No entanto, isto não era esperado, dado que esta é uma forma instável de azoto e quando na presença de OD e TRH elevados facilmente é convertido a nitrato (NO₃⁻). Por isso, é um tema que necessita continuar a ser estudado.

6.2 Remoção de compostos de boro

Estes ensaios foram realizados nas ZHA 3, ZHA 4 e ZHA 5, de acordo com o indicado no Quadro 3. Optou-se por adicionar matéria orgânica ao afluente, porque frequentemente o boro ocorre em afluentes constituídos por matéria orgânica e azoto, devido à utilização de fertilizantes e pesticidas, no entanto, por dificuldades operatórias não foi efetuado nenhum ensaio com afluente que possuísse em simultâneo, boro, azoto e matéria orgânica.

6.2.1 Efeito da temperatura

Nos meses em que decorreram estes ensaios, a temperatura atmosférica (ar) apresentou oscilações médias, aproximadamente de 27°C. O valor de temperatura no interior dos leitos foi sempre menor, provavelmente devido ao material de enchimento dos leitos, Leca® NR 10/20.

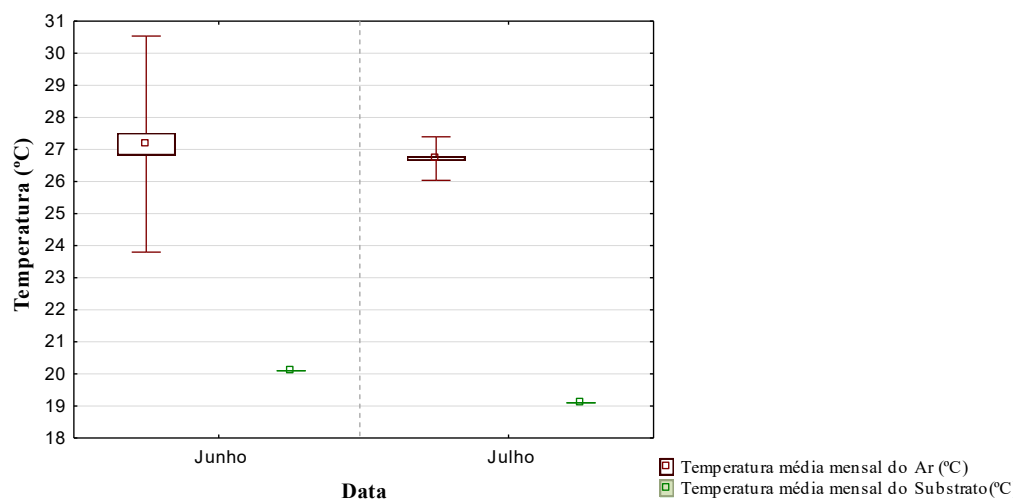


Figura 27 - Temperatura do ar observada durante os ensaios, nos meses de junho e julho.

Na gama de temperatura em que os ensaios foram realizados de acordo com a literatura não ocorreu a inibição microbiana e da biomassa vegetal que apresenta uma tendência para aumentar.

6.2.2 Crescimento das plantas

Na ZHA 3 alimentada com um afluente só com matéria orgânica (MO) contabilizada sob a forma de CQO e meio mineral, não se verificou nenhum sintoma visível de toxicidade na biomassa vegetal ao durante o período experimental.

Nas restantes ZHAs (4,5), que foram alimentados com boro + M.O e boro, a uma concentração variável, observou-se o amarelecimento na extremidade das folhas mais antigas, quando a concentração de boro foi de 30 ± 1 mg/L. Estes sinais foram mais acentuados na ZHA 5 (alimentada só com boro), como é possível observar-se na figura 28a e figura 28b.



Figura 28 - Efeitos visíveis das macrófitas na ZHA 4 (a) com concentrações de boro de 30 mg B/L e de CQO de 90 ± 11 mg/L, na ZHA 5 (b) com concentração de boro de 30 ± 1 mg B/L.

Na figura 29, pode-se observar um modelo de crescimento idêntico nas três ZHAs, no entanto a taxa de crescimento médio foi mais elevado na ZHA 4 (alimentada com boro + matéria orgânica).

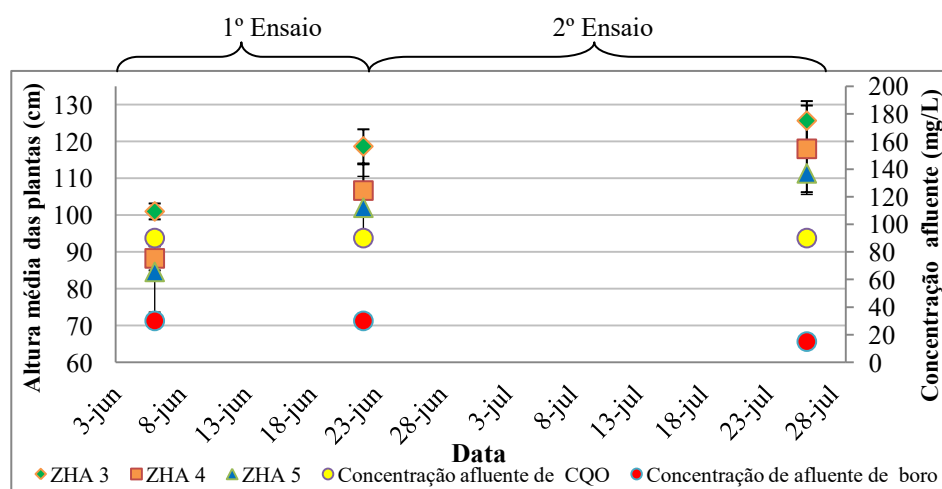


Figura 29- Crescimento da *Vetiveria zizanioides* ao longo da realização do estudo com a seguinte alimentação: (ZHA 3- CQO, ZHA 4 - CQO e boro e ZHA 5 boro).

Apesar da ZHA 3 ser alimentada unicamente com afluentes constituído apenas por matéria orgânica foi onde se verificou menor crescimento. Ao longo do 1º ensaio, verificou-se um crescimento de 18 ± 1 cm, enquanto, no 2º ensaio o crescimento diminuiu aproximadamente 11 ± 4 cm. Em sequência do que foi referido anteriormente e em conjunto com análise da figura 30 verifica-se que o crescimento, 1º ensaio (30 mg B/L), para a ZHA 4 e para a ZHA 5 foi mais acentuada que na ZHA 3, com um crescimento aproximadamente de 18 ± 3 cm em ambas as ZHAs. No intervalo temporal do 2º ensaio (15 mg B/L), confirmou-se uma descida no crescimento de 7 ± 2 cm para a ZHA 4 e uma diminuição de 8 ± 3 cm para a ZHA 5.

Nas ZHA 4 e 5, em termos do crescimento, observou-se durante todo o período em que se realizou os ensaios, um comportamento muito semelhante em ambas as ZHAs, com um crescimento médio de 28 ± 4 cm. A *Vetiveria Zizanioides* da ZHA 3 não apresentaram sintomas visuais de toxicidade mas foi nesta ZHA que se observou um menor crescimento médio, ou seja, de 25 ± 2 cm, menos 3 cm do que a ZHA 4 e 5. O que leva a afirmar que na ZHA 3, alimentada unicamente com matéria orgânica não permitiu um bom desenvolvimento da biomassa foliar. Nas ZHAs onde o boro se encontrava sozinho ou combinado com matéria orgânica (CQO), observou-se um maior desenvolvimento na biomassa foliar apesar de ser referido na literatura que o boro presente os afluentes podem causar sinais de amarelecimento e depois paragem no crescimento nas plantas.

6.2.3 Caraterização e composição da biomassa foliar

Neste subcapítulo serão apresentados os resultados de algumas determinações efetuadas na biomassa vegetal. Não se efetuaram determinações na biomassa radicular porque isso implicaria a destruição das ZHAs, dado que o seu sistema radicular está completamente enrolado no material do substrato.

Determinação da humidade

No tratamento de dados que vão ser apresentados, optou-se por assinalar nas figuras o início dos ensaios como a carga aplicada de azoto.

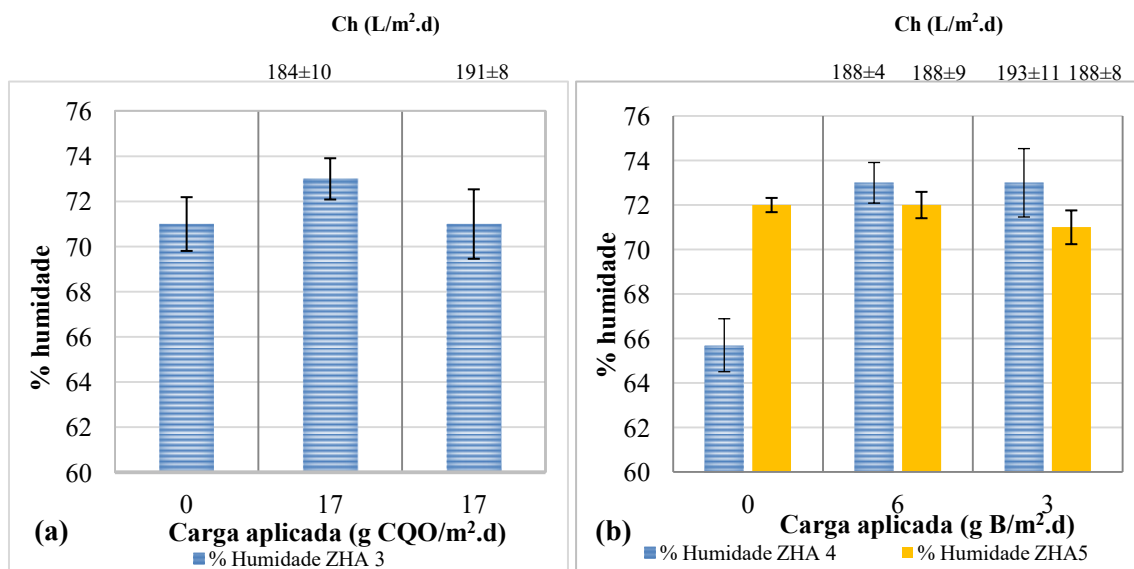


Figura 30 - Teor de humidade (% de humidade) na (a) ZHA 3-CQO e na (b) ZHA 4 - CQO + Boro e ZHA 5 - Boro.

Na figura 30a, é possível observar que o teor de humidade na ZHA alimentada só com matéria orgânica (CQO) a humidade, sem diferenças significativas ao longo dos dois ensaios. Na ZHA 4, aumentou ao longo do primeiro ensaio e manteve-se praticamente constante até ao final dos ensaios. Na ZHA 5 foi possível verificar que a humidade apenas sofreu uma pequena tendência para diminuir, pelo que a presença do boro na alimentação não influenciou o teor em humidade nas plantas.

Nutrientes e elementos minerais

Na figura 31, apresenta-se o teor de alguns catiões (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ e K^+) e nutrientes (P e N) na biomassa vegetal das ZHAs, determinadas previamente ao início dos ensaios (carga 0) e apos no término de cada ensaio (identificado com a carga usado em cada ensaio).

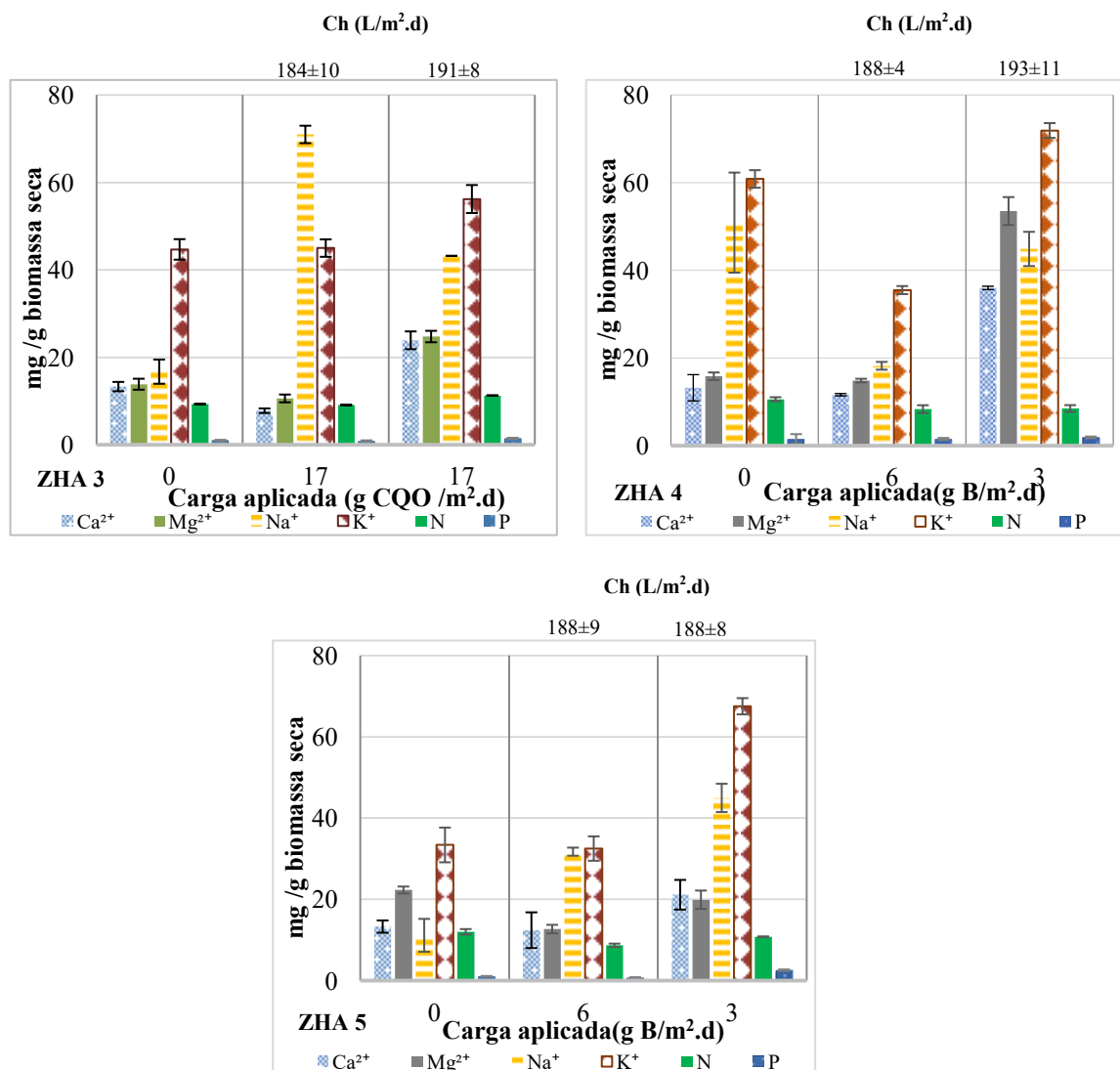


Figura 31 - Concentração de Cálcio (Ca^{2+}), Magnésio (Mg^{2+}), Sódio (Na^+), Potássio (K^+), Azoto (N) e fósforo (P) em mg / g biomassa seca nas ZHA 3 (CQO), 4 (CQO + Boro) e 5 (Boro) em relação a carga aplicada.

Na ZHA 3 (CQO), praticamente todos os parâmetros medidos com exceção do Na^+ , apresentam tendência para aumentar, provavelmente devido ao crescimento da biomassa foliar. Na ZHA 4, o Ca^{2+} e Mg^{2+} apresentam uma maior tendência para aumentar que na ZHA 5, possivelmente devido à presença da CQO no afluente, que pode de alguma forma interferir com a assimilação destes íons do afluente. Relativamente ao Na^+ e o K^+ observou-se na ZHA 4 (CQO +B) uma diminuição no final do 1º ensaio efetuado com carga de boro mais elevada (6 g/m².d), tendo posteriormente aumentado quando a carga de boro diminuiu no afluente passou a 3 g/m².d. Na ZHA 5 (alimentada só com boro), observou-se uma tendência para aumentar, menos significativa no ensaio efetuado com a concentração de boro mais elevada (6 g/m².d). Na análise dos resultados anteriores, o

efeito da combinação de CQO e boro provoca mais alterações nos catiões e nutrientes (P e N) presentes na biomassa foliar da *Vetiveria Zizanioides*.

Foi também analisado o teor de clorofila *a*, *b* e *total* e carotenoides para se perceber qual o efeito da alimentação das ZHAs com matéria orgânica (CQO), CQO+B e só com B. Através da figura 32 é possível observar esse efeito.

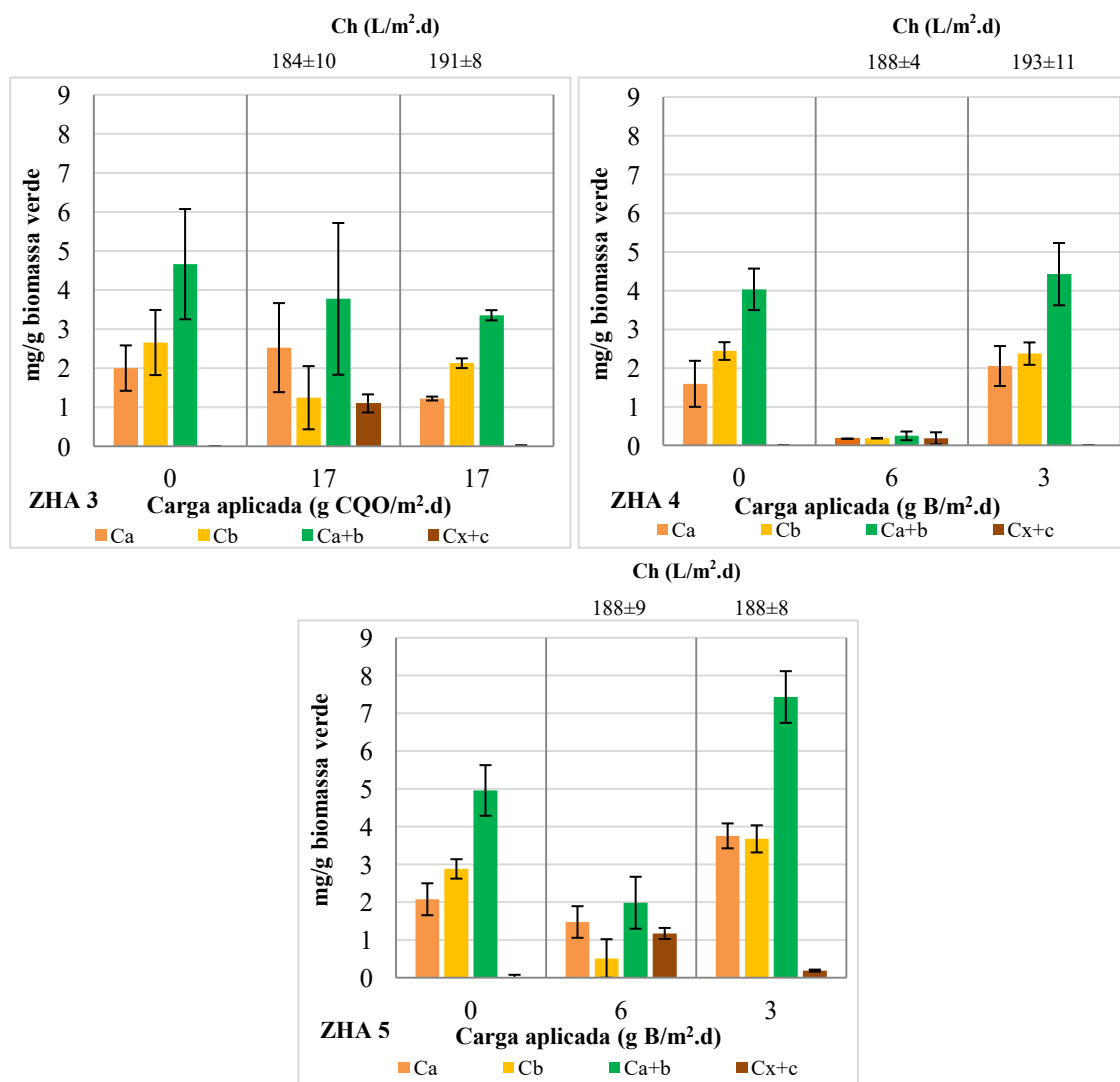


Figura 32 – Concentração de clorofilas *a*, *b*, totais e carotenoides (mg/g biomassa verde) nas ZHA 3 (CQO), 4 (CQO + Boro) e 5 (Boro), em relação a carga aplicada.

Na ZHA 3 alimentada só com matéria orgânica (CQO), verificou-se em geral uma diminuição da concentração da clorofila *b* e *total*, ao longo de todo o período experimental.

A ZHA 4 (alimentada com matéria orgânica e boro) verificou-se uma drástica diminuição nas concentrações de clorofilas *a*, *b* e *total* e um aumento pouco significativos na concentração de carotenoides, após o primeiro ensaio (carga aplicada de 6 g B/m².d). No 2º ensaio a carga foi de 3 g B/m².d, houve um aumento na

concentração das clorofilas (*a*, *b* e *total*) e uma diminuição da concentração dos carotenoides. Na ZHA 5 (alimentada só com boro), o comportamento do teor em clorofila foi semelhante ao observado na ZHA 4, porém, não houve variações tão bruscas nas concentrações de clorofilas (*a*, *b* e *total*) e carotenoides, comparativamente a ZHA 4. Através destes resultados foi possível concluir, que a concentração de clorofilas e carotenoides foi influenciado negativamente pela conjugação de CQO+B e também pelo teor de boro elevado no afluente.

6.2.2 Influência da variação do oxigénio dissolvido (OD), potencial redox (Eh), condutividade eléctrica (CE) e o pH.

De forma geral, em todas as ZHAs, os valores de OD foram sempre maiores no afluente do que no efluente. Eventualmente a degradação dos compostos presentes, nomeadamente a oxidação da matéria orgânica (CQO) ou compostos de boro, no afluente consumiram o oxigénio.

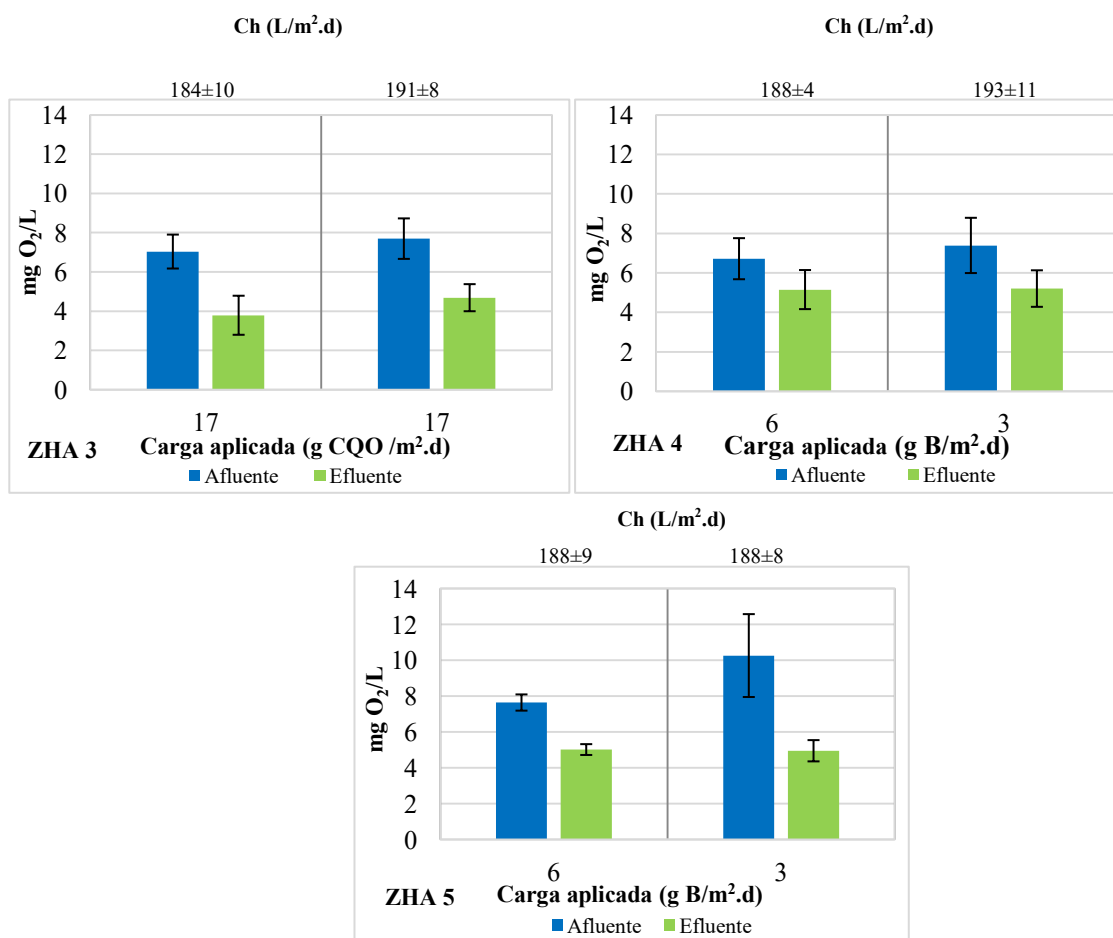


Figura 33 - Valores de oxigénio dissolvido (OD) no afluente e no efluente para as cargas de CQO de 17 g CQO/m².d e de 6 e 3 g B/m².d, nas ZHA 3 (CQO), 4 (CQO + Boro) e 5 (Boro).

Na figura 33, verifica-se que em ambas as cargas, houve uma maior diminuição do oxigénio entre o afluente e efluente, possivelmente consumido nas reação que ocorreram. No caso da CQO + boro, o comportamento do oxigénio, nas duas cargas (6 e 3 g B/m².d), foi semelhante. Por fim no caso do boro, verificou-se que na carga de 6 g B/m².d, provocou que o consumo de oxigénio por parte do sistema fosse maior, relativamente, á carga menos elevada. Esta diminuição oxigénio na ZHA 5 foi maior para a menor carga, provavelmente, pode ser devido às eficiências de remoção obtidas que serão comentadas mais adiante.

O potencial redox (Eh), como acontece com a concentração do oxigénio dissolvido, constitui um parâmetro que permite medir ou avaliar a eventual ocorrência de reações de oxidação-redução, nomeadamente, o modo como ocorreu a degradação da matéria orgânica (CQO) ou as reações que envolveram as mudanças de estado de oxidação dos compostos de boro.

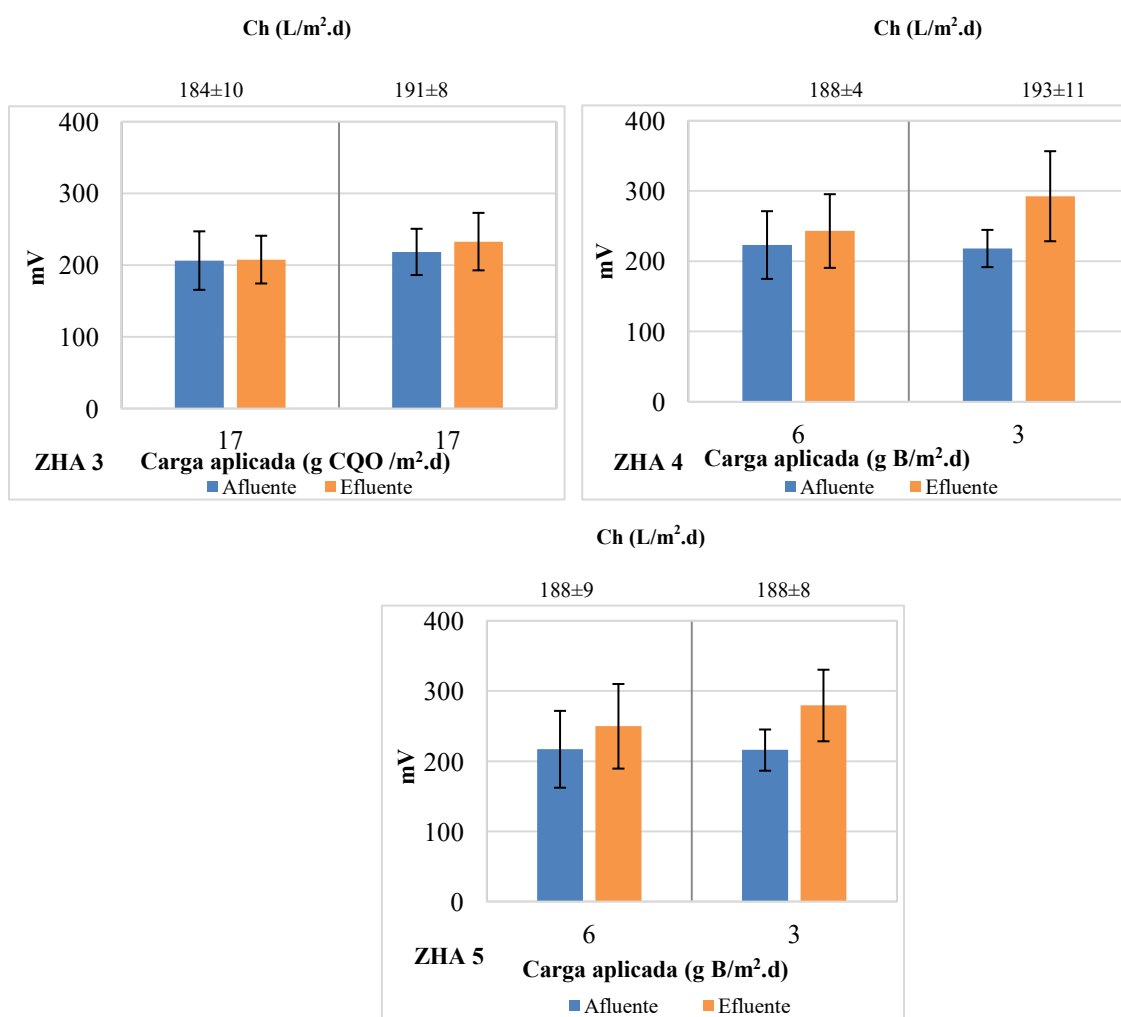


Figura 34 - Valores de potencial redox (Eh) no afluente e no efluente para as cargas de CQO de 17 g CQO/m².d e de 6 e 3 g B/m².d, nas ZHA 3 (CQO), 4 (CQO + Boro) e 5 (Boro).

O potencial redox (Eh) na ZHA 3, alimentada unicamente com matéria orgânica (CQO), não apresentou variações significativas entre o afluente e efluente. Relativamente ao Eh, nas ZHA 4 e ZHA 5 observou-se um aumento entre o afluente e efluente, eventualmente devido a alteração do estado de oxidação dos compostos de boro.

Em todas as ZHAs (Figura 35) a CE manteve-se praticamente constante, ao longo de todo o período experimental, o que nos leva a concluir que não ocorreu precipitação de sais no interior do leito das ZHAs.

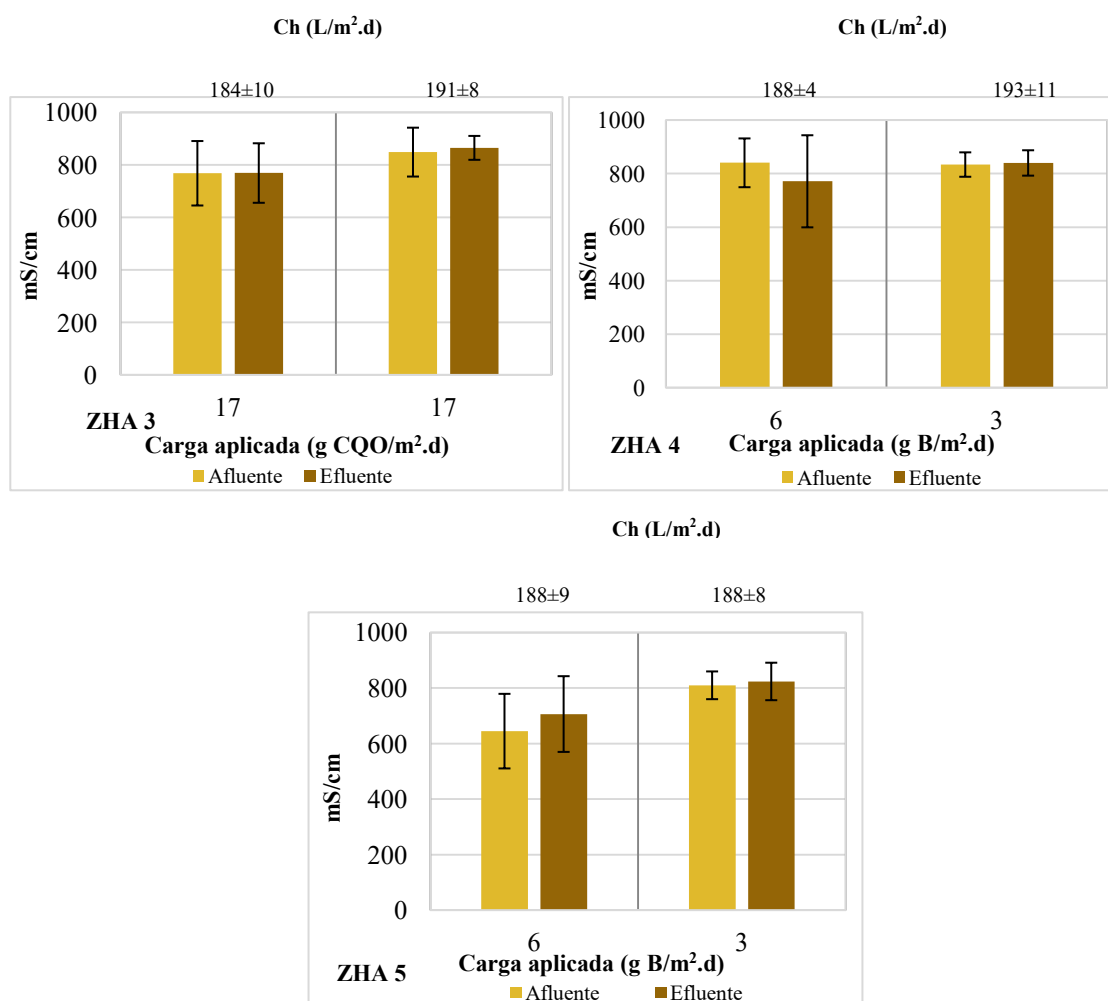


Figura 35 - Valores de condutividade elétrica no afluente e no efluente para as cargas de CQO de 17 g CQO/m².d e de 6 e 3 g B/m².d, nas ZHA 3 (CQO), 4 (CQO + Boro) e 5 (Boro).

Na figura 36, apresentam -se os valores médios de pH medidos no afluente e efluente de cada as ZHAs.

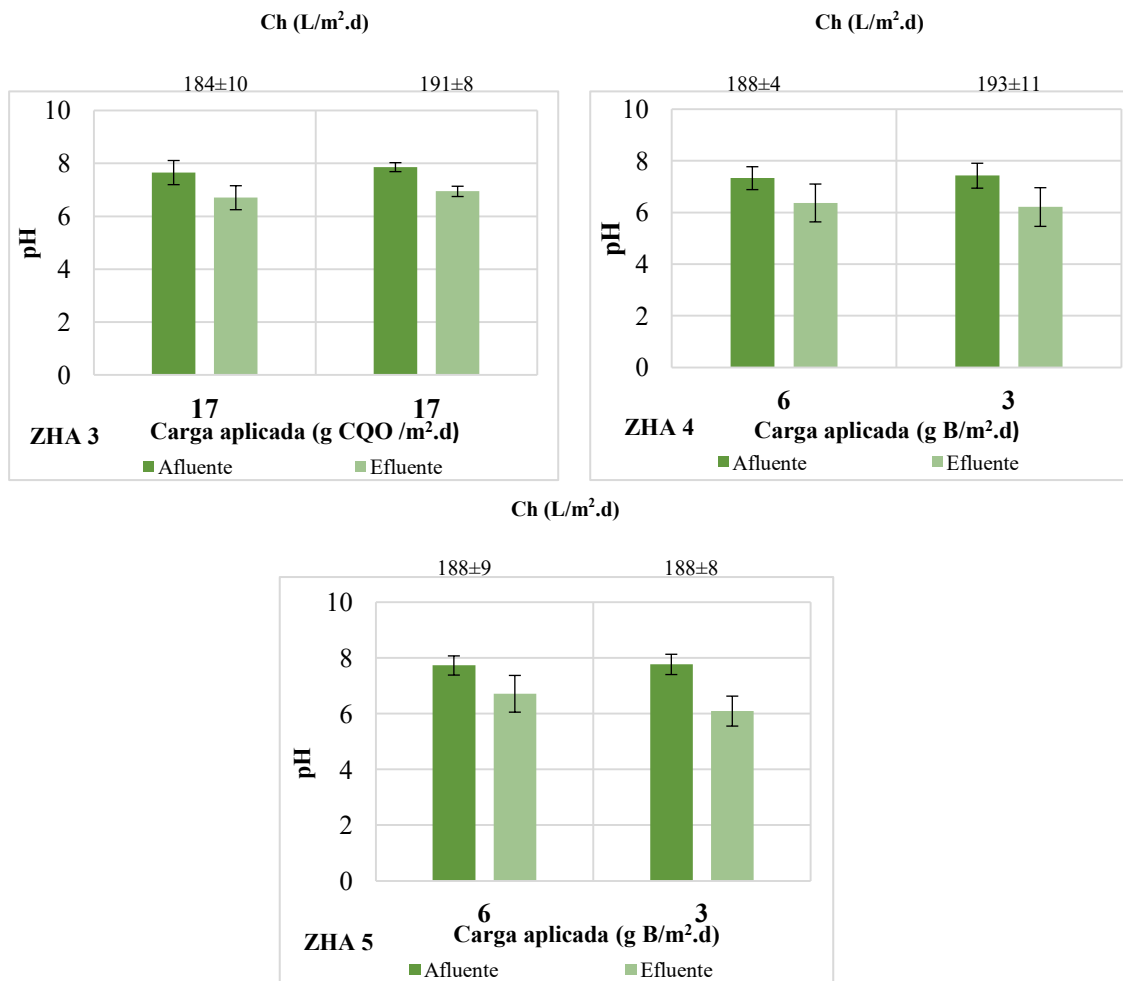


Figura 36 -Valores de pH no afluente e no efluente para as concentrações de CQO de 17 g CQO/m².d e de 6 e 3 g B/m².d, nas ZHA 3 (CQO), 4 (CQO + Boro) e 5 (Boro).

O pH do efluente na ZHA 3, diminuição ligeira entre o afluente e o efluente do sistema que pode dever-se à degradação da matéria orgânica e a libertação de CO₂ que faz diminuir o pH. Este era um efluente (em todas ZHAs) sem incremento de alcalinidade. No caso das ZHA 4 e 5, observou-se também um abaixamento de pH no efluente, causado eventualmente pela degradação da MO (ZHA 4) ou algumas reações em que os compostos de boro estejam envolvidos e levem há produção de iões H⁺ e consequente abaixamento de pH. O maior decréscimo de pH (ZHA 4 e ZHA5), foi observado no ensaio realizado com menor carga de boro no afluente, sendo neste ensaio que as eficiências de remoção de boro foram mais elevada, como será discutido posteriormente.

6.2.3 Avaliação da remoção de boro

Através da análise da figura 37, verificou-se que ocorreu remoção de boro por fitoremediação. Segundo, Ye *et al.*, (2003), obtiveram 32% de eficiência de remoção de

B através de um ensaio realizado nos EUA. Onde Gross *et al.*, (2007), relataram remoção de 65% para sistemas de ZHAs de fluxo com escoamento vertical em Israel. Além disso, estudos da Turquia mostraram que os sistemas de ZHAs plantados com *T.latifolia* e *P.australis* removeram 32% de boro em afluentes (Turker *et al.*, 2014).

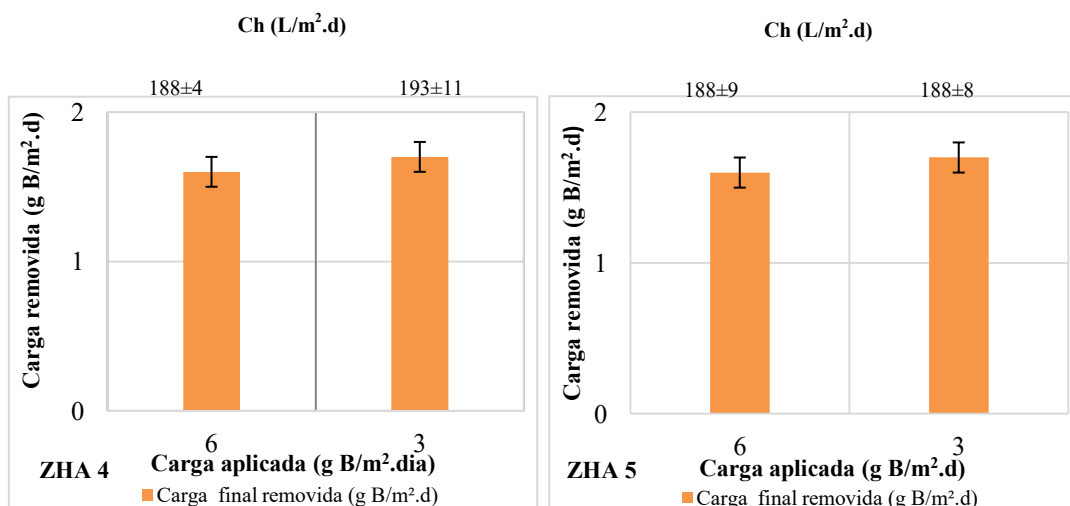


Figura 37 -Valores da carga removida de boro no afluente e no efluente nas ZHA 4 (CQO + Boro) e 5 (Boro).

O estudo realizado com a *Vetiverias zizanioides*, demonstrou que, se obteve melhores taxas de remoção na ZHA 5, alimentando só com boro, do que na ZHA 4, alimentada com CQO + boro. Na ZHA 4 (alimentada com MO+B), as cargas removidas foram de $1,1 \pm 0,1$ g B/m².d e de $1,2 \pm 0,1$ g B/m².d e as eficiências de remoção foram de $19 \pm 5\%$ e $41 \pm 7\%$, quando a carga aplicada foi de 6 g B/m².d e de 3 g B/m².d, respectivamente. Na ZHA 5 (alimentada com B), as cargas removidas foram de $1,6 \pm 0,1$ g B/m².d e de $1,7 \pm 0,1$ g B/m².d e as eficiências de remoção foram de $26 \pm 5\%$ e $56 \pm 7\%$, quando a carga aplicada foi de 6 g B/m².d e de 3 g B/m².d, respectivamente.

Efetuuou-se a determinação do boro na biomassa foliar o que permitiu concluir que, o teor em boro depende da sua concentração no afluente e da presença de matéria orgânica (CQO) no afluente.

O boro nas folhas da *Vetiverias zizanioides* depende da carga aplicada. Assim, o valor mais elevado de $1,1 \pm 0,02$ mg/g biomassa seca foi obtido na ZHA 4 (CQO + boro) no ensaio efetuado com uma carga de 6 g/m².d. Na ZHA 5, observou-se que as plantas apresentaram maior capacidade de assimilação de boro no ensaio realizado com a carga de 3 g/m².d ($0,065 \pm 0,01$ mg/g biomassa seca).

Foi também determinado a influência na relação entre a carga hidráulica (Ch) aplicada e a concentração de boro afluente ($[B]_{\text{afluente}}$) e no efluente ($[B]_{\text{efluente}}$) através

de análise estatística de correlação linear múltipla. O objetivo foi avaliar a possibilidade de calcular a $[B]_{\text{efluente}}$, dependendo da Ch e da $[B]_{\text{afluente}}$.

Os resultados obtidos para a ZHA 4 foi a $[B]_{\text{afluente}}$ (mg B/L) = $9,8 - 0,055 \times \text{Ch} - 0,85 \times [B]_{\text{afluente}}$ e uma coeficiente de correlação com um R de 0,68. O coeficiente de correlação foi calculado pelo teste t-student para $p = 0,05$.

Observou-se que a carga hidráulica (Ch) é um fator importante que influência a concentração de saída, onde $R = 0,68$.

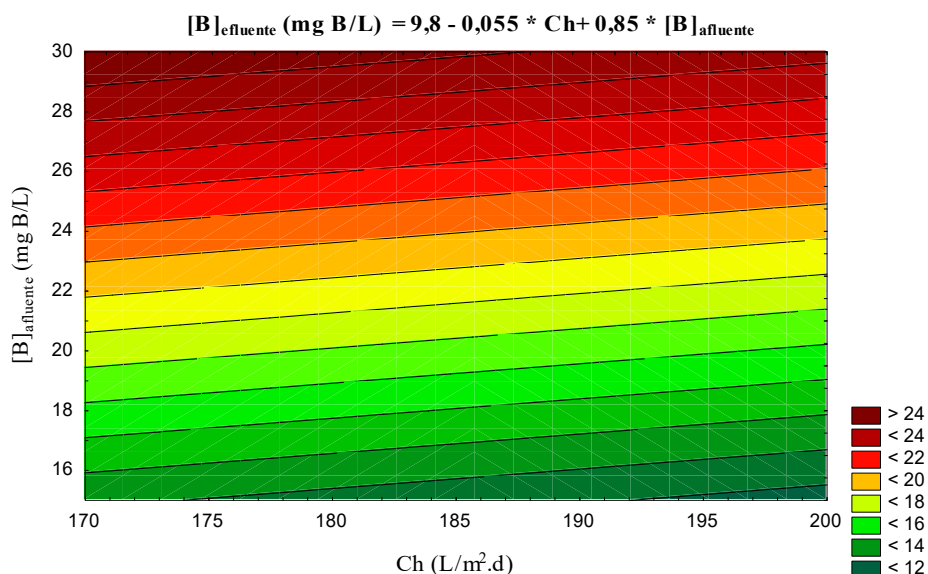


Figura 38 - Nomograma para determinar a concentração efluente em função da carga hidráulica e da concentração matéria orgânica e boro no afluente na ZHA 4.

Com base nos resultados da correlação linear múltipla, obteve-se o seguinte modelo (Figura 39), a partir do qual a $[B]_{\text{efluente}}$ na ZHA 5 pode ser observada. O modelo criado pode ser descrito pela seguinte equação: $[B]_{\text{efluente}} \text{ (mg B/L)} = -10 + 0,036 \times \text{Ch} + 0,96 \times [B]_{\text{afluente}}$. O coeficiente de correlação (R) determinado foi de 0,99, um teste t-student de $p = 0,05$.

No caso da ZHA 5 (Figura 38), verificou-se que a carga hidráulica (Ch) afluente é um fator determinante na $[B]_{\text{efluente}}$, mas mais influenciador do que na ZHA 4. O que leva a afirmar que a matéria orgânica (MO) interfere negativamente com o cálculo da $[B]_{\text{efluente}}$ através do modelo de regressão múltipla.

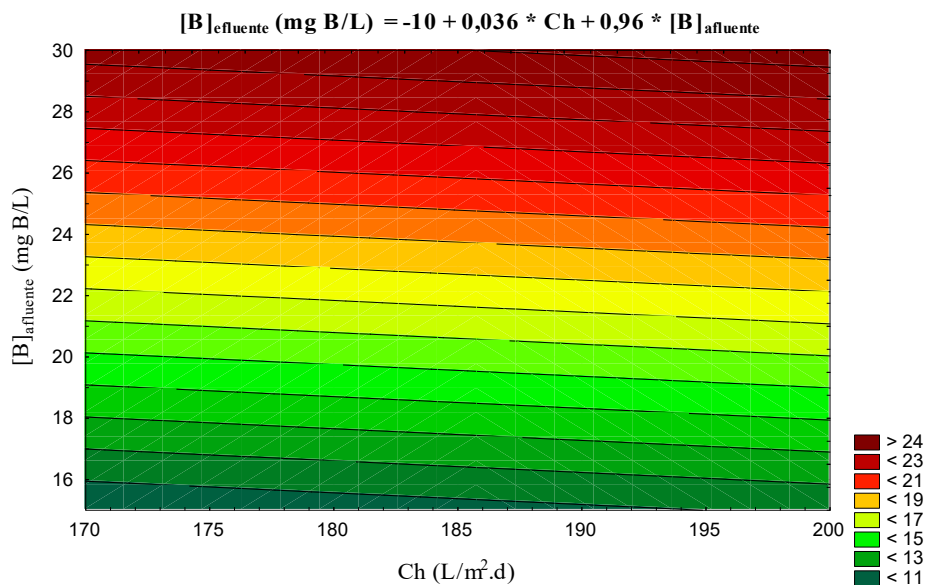


Figura 39- Nomograma para determinar a concentração de saída em função da carga hidráulica e da concentração de entrada de boro no afluente da ZHA 5.

Após a avaliação dos resultados obtidos e referidos anteriormente, importa salientar que MO interfere na remoção do boro (dado que na ZHA 4 obteve-se um $R = 0,64$ e que na ZHA 5 o R foi de $0,99$).

Os mecanismos associados à remoção de boro referidos na literatura são a **fitoextração** (que pode incluir a fitoacumulação, fitoabsorção ou fitosequestração) que se refere à absorção do boro pelas raízes das plantas e a sua translocação e acumulação nas folhas das plantas.

Na ZHA 4 as cargas removidas foram praticamente idênticas, e a assimilação de boro pela planta foi maior no ensaio efetuado com a carga de $6 \text{ g/m}^2\text{.d}$. Enquanto na ZHA 5, o teor de boro presente nas folhas foi mais elevado no ensaio em que se obteve maior remoção de carga aplicada. Assim, a fitoextração poderá ter sido um dos mecanismos através dos quais ocorreu a remoção de boro, mas este processo foi influenciado pela composição do afluente, a presença de matéria orgânica (CQO) e também pela carga aplicada.

7. Conclusão

Com os resultados obtidos neste trabalho foi possível concluir que apesar de se ter tratado um afluente com teores de azoto amoniacal até 80 ± 2 mg/ L nunca se observaram sintomas de toxicidade nas plantas, tais como a clorose e/ou morte.

A concentração P, N e K^+ , presentes na biomassa foliar não variaram nem com a profundidade nem com a concentração de azoto amoniacal. Relativamente ao Ca^{2+} , Mg^{2+} e Na^+ diminuíram com o aumento da concentração de azoto amoniacal.

No que concerne ao teor em clorofilas, observou-se que a menor profundidade da ZHA e o aumento da concentração de NH_4^+ contribuiu para a diminuição dos teores de clorofilas *a*, *b* e *totais*.

Obtiveram-se diferenças significativas entre a remoção de azoto amoniacal em cada ZHA, a nitrificação contribuiu para a remoção de azoto amoniacal, tendo ocorrido o aumento da carga de nitritos e nitratos no efluente na ZHA 1 e 2. O balanço de massa de azoto total realizado sugeriu que o processo de nitrificação/desnitrificação ocorreu em conjunto com a absorção do azoto por parte das plantas.

A eficiência média da remoção de $N-NH_4^+$ foi de $58 \pm 2\%$ para a ZHA 1 e de $43 \pm 4\%$ para a ZHA 2, enquanto a eficiência de remoção média de NT (azoto amoniacal + nitrito + nitrato) obtida para ZHA 1 é de $18 \pm 4\%$ e para ZHA 2 de $42 \pm 5\%$. A maior profundidade (ZHA 1) apresentou eficiências de remoção de $N-NH_4^+$ mais elevadas, mas os teores de nitrito no efluente levaram a que a remoção de NT fosse menor (o motivo pode ter sido porque não ocorreu a nitrificação completa, ou porque a desnitrificação foi interrompida, devido à presença de OD), assim a maior profundidade da ZHA contribuiu para menores eficiências de remoção de azoto total (NT).

Nos ensaios efetuados com o objetivo de avaliar a remoção dos compostos de boro, o crescimento da *Vetiveria Zizanioides*, na ZHA 3 (utilizada como branco, alimentada só com MO) não apresentou sintomas visuais de toxicidade, mas foi onde se observou um menor crescimento, em comparação com as ZHAs 4 (alimentada com boro e MO) e 5 (alimentada só com boro). Nas ZHAs onde o boro se encontrava sozinho ou combinado com matéria orgânica (CQO), observou-se um maior desenvolvimento na biomassa foliar.

Os resultados mostram que a composição da biomassa foliar varia da seguinte forma: na ZHA 3 (alimentada só com MO), praticamente todos os parâmetros medidos (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , P e N) com exceção do Na^+ , apresentam tendência para aumentar,

provavelmente devido ao crescimento da biomassa foliar. Na ZHA 4, o Ca^{2+} e Mg^{2+} apresentaram uma maior tendência para aumentar que na ZHA 5, possivelmente devido à presença da MO no afluente (ZHA 4), que pode de alguma forma interferir com a assimilação destes iões do afluente. Relativamente ao Na^+ e o K^+ observa-se na ZHA 4 (MO+B) uma diminuição no final do 1º ensaio que foi efetuado com carga de boro mais elevada ($6 \text{ g/m}^2\text{.d}$), tendo estes aumentado posteriormente quando a carga de boro no afluente diminuiu, passou a $3 \text{ g/m}^2\text{.d}$. Na ZHA 5 (alimentada só com boro), observou-se acréscimo destes iões, menos acentuado no ensaio efetuado com a carga de boro mais elevada ($6 \text{ g/m}^2\text{.d}$). Através dos resultados referentes aos teores em clorofilas e carotenoides foi possível concluir, que a concentração de clorofilas e carotenoides foi influenciado negativamente pela conjugação de MO+B e também pela maior concentração de boro no afluente

Conclui-se que houve remoção do boro nas ZHA 4 e 5, com uma maior eficiência de remoção na ZHA 5 (alimentado unicamente com boro). Na ZHA 4 obtiveram-se eficiências de remoção de $19 \pm 5\%$ e $15 \pm 1\%$, respectivamente para as cargas de 6 e $3 \text{ g B/m}^2\text{.d}$. Na ZHA 5 as eficiências de remoção foram de $26 \pm 5\%$ e de $56 \pm 7\%$ para as cargas de 6 e $3 \text{ g B/m}^2\text{.d}$.

É necessário prosseguir este estudo, com efluentes compostos simultaneamente por N, B e MO, por forma a entender os mecanismos de remoção, bem como se a composição da biomassa são afetados por este tipo de afluentes e eventuais efeitos de toxicidade nas plantas.

8. Referências Bibliográficas

- 4agreenfuture. (5 de Abril de 2018). *Tratamento de Esgoto Descentralizado via Wetlands Construídos*. Obtido em 20 de Novembro de 2018, de <https://4agreenfuture.wordpress.com/2018/04/05/44/>
- Akratos, C. & Tsihrintzis, V. (2007). Effect of temperature, hydraulic retention time, vegetation and porous media on removal efficiency of pilot - scale horizontal subsurface flow constructed wetlands. 25, 173-191.
- Ali, H., Khan, E. & Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals - Concepts and applications. *Chemosphere*, 91 (7), 869-881.
- Allende, K., Fletcher, T. & Sun, G. (2012). The effect of substrate media on the removal of arsenic, boron and iron from an acidic wastewater in planted column reactors. *Chemical Engineering*, 179, 119-130.
- Almeida, A. (2011). Remoção de Compostos de Azoto em Efluentes de Suinicultura por Recurso à Fitoremediação. *Dissertação para a obtenção do Grau de Doutor em Engenharia do Ambiente*, pp. 7 - 40.
- Almeida, A., Carvalho, F., Imaginário, M., Castanheira, M., Prazeres, A. & Ribeiro, C. (2017). Nitrate removal in vertical flow constructed wetland planted with *Vetiveria zizanioides*: Effect of hydraulic load. (pp. 535–542). *Ecological Engineering*. Obtido de <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.069>
- Almeida, A., Carvalho, F., Ribeiro, C., Durão, A., Ózwiakowski, K., Kowalczyk-Juško, A. & Gajewska, M. (20 de Dezembro de 2018). Nitrogen removal in vertical flow constructed wetlands: influence of bed depth and high nitrogen loadings. *Environmental Technology*, 1 - 34. doi:10.1080/09593330.2018.1557749
- Almeida, A., Mello, M., Durão, A., Carvalho, F. & Ribeiro, C. (10 de Outubro de 2018). Remoção de matéria orgânica e compostos de azoto em efluentes de suinicultura por fitoremediação.
- Almeida, A., Novais, J. & Martins Dias, S. (2012). Remoção e valorização de azoto amoniacal em zona húmida artificial plantada com *Vetiveria zizanioides*. *Livro de atas do 15º Encontro Nacional de Engenharia Sanitária e Ambiental*, (pp. 219-221). Guimarães, Portugal.
- Almeida, E. (2011). Avaliação do potencial da espécie *Vetiveria zizanioides* na fitoremediação de metais-traço presentes em ambientes aquáticos. *Dissertação de Mestrado em Saneamento Meio Ambiente e Recursos Hídricos* (pp. 10 - 40). Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais.
- Almeida, M., Fernandes, R. & Davies, L. (2008). Swine wastewater nitrification and denitrification in a vertical flow constructed wetland planted with *Vetiveria zizanioides*. *11th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control*, (pp. 93-98). India.
- Alves, A. (2009). Absorção e mobilidade do boro em plantas de repolho e de couve-flor. *Dissertação de Mestrado em Agronomia - Produção Vegetal* (pp. 4 - 13). São Paulo: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.
- Arnon, D. I. & Stout, P. R. (01 de Abril de 1939). The essentiality of certain elements in minute quantities for plants with special reference to copper. *International Plant Nutrition Institute* 14 (2), 371-375.
- Bae, W., Baek, S., Chung, J. & Lee, Y. (2001). Optimal operational factors for nitrite accumulation in batch reactors. *Biodegradation*, 12 (5), 359-366.
- Bastviken, K., Eriksson, P., Premrov, A. & Tonderski, I. K. (2005). Potential denitrification in wetland sediments with different plant species detritus. *Ecological Engineering*, 25 (2), 183-190.
- Bastviken, S. K., Weisner, S. E., Thiere, G., Svensson, J. M., Ehde, P. M. & Tonderski, K. S. (2009). Effects of vegetation and hydraulic load on seasonal nitrate Removal in treatment wetlands. *Ecological Engineering*, 35 (5), 946-952.

- Bologna, I. (2003). Adubação boratada em pomar de laranja pêra rio afetada pela clorose variegada dos citrios. *Dissertação de Mestrado*. São Paulo: Universidade de São Paulo.
- Bonanno, G. (2011). Trace element accumulation and distribution in the organs of *Phragmites australis* (common reed) and biomonitoring applications. (74, Ed.) *Ecotoxicol environ safety*, 1057-1064.
- Britto, D. T. & Kronzucker, H. J. (2002). NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. *J. Plant Physiol*, 159 (6), 567 - 584.
- Brix, H. (1997). Do macrophytes play a role in constructed wetlands. *Water Science and Technology*, 35 (5), 11-17.
- Brix, H. (2003). Functions of Macrophytes in Constructed Wetlands. *Water Science & Technology*, 29 (4), 71-78.
- Cheng, X., Wang, M., Zhang, C., Wang, S. & Chen, Z. (2014). Relationships between plant photosynthesis, radial oxygen loss and nutrient removal in constructed wetland microcosms. *Biochemical Systematics and Ecology*, 54, 299-306.
- Clesceri, L., Greenberg, A. & Eaton, E. (1995). *Standard Methods for the examination of water and wastewater* (19^o ed.). Washington, DC: American Public Health Association.
- Cooper, P. (2001). Nitrification and denitrification in hybrid constructed wetlands systems. In V. J., *Transformations of Nutrients in Natural and Constructed Wetlands* (pp. 257-270). Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers.
- Cooper, P. (2005). The performance of vertical flow constructed wetland system with special reference to the significance of oxygen transfer and hydraulic loading rates. *Water Science & Technology*, 51 (9), 81-90.
- Cooper, P., Griffin, P., Humphries, S. & Pound, A. (1999). Design of a hybrid reed bed system to achieve complete nitrification and denitrification of domestic sewage. *Water Science and Technology*, 40 (3), 283-289.
- Decreto-Lei nº 152/97. (19 de Junho de 1997). *Diário da Republica nº1139 - I Série - A*. Ministério do Ambiente.Lisboa.
- Deifel, K., Kopitke, P. & Menzies, N. (2006). Growth response of various perennial grasses to increasing salinity. *Journal of Plant Nutrition*, 29 (9), 1573-1584.
- Dias, S. (1998). Tratamento de efluentes em zonas húmidas construídas ou leitos de macrófitas. *Chemosphere*, (60), 14-20.
- Dudai, N., Putievsky, E., Chaimovitch, D. & Ben-Hur, M. (2006). Growth management of vetiver (*Vetiveria zizanioides*) under Mediterranean conditions. *Journal of Environmental Management*, 81 (1), 63-71.
- Edelstein, M., Plaut, Z. & Dudai, N. (2009). Vetiver (*Vetiveria zizanioides*) responses to fertilization and salinity under irrigation conditions. *Journal of Environmental Management*, 1-302.
- Esteban, R., Ariz, C. & Moran, J. (2016). Review: mechanisms of ammonium toxicity and the quest for tolerance. *Plant Science*, 248, 92-101.
- Ferreira, G. (2014). Absorção de boro e potássio e relação com a actividade de H^+ - ATPase em raízes de porta- enxertos de citros. *Dissertação de Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical, Área de Gestão de Recursos Agroambientais*. (pp. 3 - 39). Campinas, São Paulo: Instituto Agrônômico.
- Galvão, A. (2009). Comportamento Hidráulico e Ambiental de Zonas Húmidas Construídas para o Tratamento de Águas Residuais. *Tese de Doutorado em Engenharia do Ambiente* (pp. 21 - 89). Lisboa: Instituto Superior Técnico.
- GESAD. (20 de Novembro de 2015). *Grupo de Estudos em Saneamento Descentralizado (GESAD)*. Obtido em 20 de Novembro de 2018, de <http://gesad.ufsc.br>

- Gianfreda, L. & Rao, M. (2004). Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review. *Enzyme and Microbial Technology*, 35 (4), 339-354.
- Greenwood, D. (1961). The effect of oxygen concentration on the decomposition of organic materials in soil. *Plant Soil*, 14 (4), 360-376.
- Horneck A, M. R. (1998). Determination of total nitrogen in plant tissue. In P. Yash, *Handbook of reference method for plant analysis* (pp. 57-84). Boca Raton (FL): CRC Press.
- Huett, D., Morris, S., Smith, G. & Hunt, N. (2005). Nitrogen and phosphorus removal from plant nursery runoff in vegetated and unvegetated subsurface flow wetlands. *Water Research*, 39 (14), 3259-3272.
- IWA. (2000). *Constructed Wetlands for Pollution Control: Processes, Performance, Design, and Operation*. London: IWA Publishing.
- Kadlec, R. H. & Wallace, S. (2009). *Treatment Wetlands* (2^o ed.). Boca Raton, U.S.A: CRC Press.
- Kadlec, R. & Knight, R. (1996). *Treatment Wetlands*. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press.
- Kadlec, R. & Wallace, S. (2008). *Treatment Wetlands* (2^o ed.). Boca Raton, New York: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Kantawanichkul, S. & Wannasri, S. (2013). Wasterwater treatment performances of horizontal and vertical subsurface flow constructed wetland systems in tropical climate. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*
- Kantawanichkul, S., Pilaila, S., Tanapiyawanich, W. & Kamkrua, S. (1999). Wastewater treatment by plants in vertical - flow constructed wetlands. *Water Science & Technology*, 40 (3), 173 - 178.
- Kinidi, L., & Salleh, S. (2017). Phytoremediation of Nitrogen as Green Chemistry for Wastewater Treatment System. *International Journal of Chemical Engineering*, 1-12.
- Klomjek, P. & Nitisoravut, S. (2005). Constructed treatment wetland: a study of eight plant species under saline conditions. *Chemosphere*, 58 (5), 585-593.
- Kotti, I., Gikas, G. & Tsihrintzis, V. (2010). Effect of operational and design parameters on removal efficiency of pilot-scale FWS constructed wetlands and comparison with HSF systems. *Ecological Engineering*, 36 (7), 862-875.
- Kronzucker, H., Britto, D., Davenport, R. & Tester, M. (2001). *Ammonium toxicity and the real cost of transport*. Trends Plant Sci.
- Kusch, P., Wiexner, A., Kappelmeyer, U., WeiXbrodt, E., Kastner, M. & Stottmeister, U. (2003). Annual cycle of nitrogen removal by a pilot-scale subsurface horizontal flow in a constructed wetland under moderate climate. *Water Research*, 37 (17), 4236-4242.
- Li, C., Bo Zhang, C., Wu, H. & Zhang, J. (2011). Physiological responses of three plant species exposed to excess ammonia in constructed wetland. *Desalination and water treatment*, 32 (1), 271-276.
- Liu, G., Du, Q. & Li, J. (2017). Interactive effects of nitrate-ammonium rations and temperatures on growth, photosynthesis, and nitrogen metabolism of tomato seedlings. *Scientia Horticulturae*, 241, 41-50.
- Marschner, H. (1995). *Mineral Nutrition of Higher Plants* (2^o ed.). New York: Academic Press.
- Mavioso, J. F. (2010). Tratamento de águas residuais através de Leitões de Macrofitas - A influência da vegetação. *Dissertação de Mestrado* (pp. 1 -30). Lisboa: Instituto Superior Técnico .
- Meneses, Z. (2011). Extração de boro em águas produzida sintética por sistema microemulsionado. In *Dissertação Mestrado* (pp. 10 - 23). Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
- Metcalf, & Eddy. (2003). *Wastewater engineering treatment disposaland reuse*. (4^o ed.). New York: McGraw-Hill Higher Education.
- Miller, A. & Cramer, M. (2005). Root nitrogen acquisition and assimilation. *Plant Soil* 274.

- Miller, R. O. (1998). Determination of dry matter content of plant tissue: gravimetric moisture. In H. o. analysis (Ed.), *Handbook of reference method for plant analysis* (pp. 51–52). Boca Raton: CRC Press.
- Millot, Y., Troesh, S., Esser, D. & Molle, P. M. (2016). Effects of design and operational parameters on ammonium removal by single-stage French vertical flow filters treating raw domestic wastewater. *Ecological Engineering*, 97, 516 - 523.
- Nivala, J., Wallace, S., Headley, T. & Kesse, K. (2013). Oxygen transfer and consumption in subsurface flow treatment wetlands. *Engineering Ecological*, 61, 544-554.
- Novais, J. & Martins-Dias, S. (2003). Constructed wetland for industrial wastewater treatment contaminated with nitroaromatic organic compounds and nitrate at very high concentrations. In V. Dias, & J. Vymazal (Ed.), *The Use of Aquatic Macrophytes for Wastewater Treatment in Constructed Wetlands* (pp. 277-288). Lisbon, Portuga: ICN and INAG.
- Oliveira, J. (2007). Diagnostico e optimização do tratamento de águas residuais em leitos de macrófitas. *Dissertação de Mestrado em Tratamento em Águas e Águas Residuais* (pp. 4 - 62). Porto: Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.
- Pen, L., Hua, Y., Cai, J., Zhao, J. W. & Zhu, D. (2014). Effects of plants and temperature on nitrogen removal and microbiology in a pilot-scale integrated vertical-flow wetland treating primary domestic wastewater. *Ecological Engineering*, 64, 285-290.
- Pezeshki, S. R. (1994). Wetland plant responses to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany*, 46 (3), 299 - 312.
- Pinho, L. (2008). Deficiência e formas de aplicação de boro em coqueiro anão verde. (pp. 1 -13). Rio de Janeiro: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- Piwpuan, N., Jampeetong, A. & Brix, H. (2014). Ammonium tolerance and toxicity of *Actinoscirpus grossus* - a candidate species for use in tropical constructed wetland systems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 107, 319-328.
- Prochaska, C. & Zouboulis, A. (2006). Removal of phosphates by pilot vertical-flow Constructed Wetlands using a mixture of sand and dolomite as substrate. *Ecological Engineering*, 31 (1), 57 - 66.
- Prochaska, C., Zouboulis, A. & Eskridge, K. (2007). Performance of pilot-scale vertical-flow constructed wetlands, as affected by season, substrate, hydraulic load and frequency of application of simulated urban sewage. *Ecological Engineering*, 26 (3), 293 - 303.
- Ren, Y., Zhang, H., Wang, C., Yang, Y., Qin, Z. & Ma, Y. (2011). Effects of the substrate depth on purification performance of a hybrid constructed wetland treating domestic sewage. *J of Envi Science and Health*, 46 (7), 777-782.
- Ribeiro, C., Mello, M., Catarino, A., Castanheira, I., Carvalho, F., Imaginário, M. & Almeida, A. (2016). Ammonium tolerance and toxicity of *Vetiveria zizanioides* – A candidate species for use in vertical flow constructed wetland. *15th IWA International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control*. (pp. 923 - 935). Gdańsk, Polska,: Gdansk University of Technology, Faculty of Civil and Environmental Engineering.
- Sabir, M., Waraich, E. A., Hakeem, K. R., Öztürk, M., Ahmad, H. R. & M., S. (2015). Phytoremediation: Mechanisms and Adaptations. . In K. Hakeem, M. Sabir, M. Ozturk, & A. Murmet, *Soil Remediation and Plants - Prospects and Challenges*. (pp. 85-105). San Diego: Academic Press.
- Saeed, T. & Sun, G. (2012). A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: Dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media. *Journal of Environmental Management*, 112, 429-448.
- Shi, W., Li, H. & Li, A. (2018). Mechanism and influencing factors of nitrogen removal in subsurface flow constructed wetland. *Applied Chemical Engineering*, 1 (1), pp. 9-14.
- Silva, D. (2007). Boro em mamoneira: Aspectos morfológicos e fisiológicos relacionados à deficiência e toxicidade. *Dissertação de Mestardo em Ciências, Área de Concentração: Energia Nuclear na*

- Agricultura* (pp. 20 - 36). São Paulo: Universidade de São Paulo, Centro de energia nuclear na agricultura.
- Silva, S. (2007). "Wetlands Construídos" de Fluxo Vertical com meio de suporte de substrato natural modificado no tratamento de esgotos domésticos. *Dissertação de Mestrado em Tecnologias Ambientais e Recursos Hídricos* (pp. 5 - 70). Brasília: Universidade de Brasília - Faculdade de Tecnologias.
- Simões, M. (2009). Avaliação da influência do tipo de enchimento no rendimento de leitos de macrófitas de escoamento subsuperficial. *Dissertação de Mestrado em Engenharia Civil* (pp. 4 - 30). Covilhã, Portugal: Universidade da Beira Interior.
- Singh, D. & Kumar, S. (2008). *Nitrate reductase, arginine deaminase, urease and dehydrogenase activities in natural soil (ridges with forest) and in cotton soil after cetamiprid treatments*. (Vol. 71). Chemosphere.
- Songliu, L., Hongying, H., Yingxue, S. & Jia, Y. (2009). Effect of carbon source on the denitrification in constructed wetlands. *Journal of Environmental Sciences*, 21, 1036-1043.
- Sousa, G. (2009). Absorção de boro e crescimento da maracujazeira adubada com boro e material de cupinzeiro. *Dissertação de Mestrado em Engenharia Agrônoma- Produção Vegetal* (pp. 2 - 8). Dourados: Universidade Federal da Grande Dourados.
- Sousa, J., Haandel, A. & Cabral, R. (Outubro/Setembro de 2004). Use de Sistemas Wetlands no Pós-Tratamento de Esgotos Sanitários Pré-Tratados em Reactores UASB. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 9 (4), 285 - 290.
- Stefanakis, A. & Tsihrintzis, V. (2012). Effects of loading, resting period, temperature, porous media, vegetation and aeration on performance of pilot-scale vertical flow constructed wetlands. *Chemical Engineering Journal*, 181 - 182, 416- 430.
- Sun, G. & Austin, D. (2007). Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in lab-scale constructed wetlands: evidence from a mass balance study. *Chemosphere*, 68 (6), 1120-1128.
- Sun, G., Gray, K. & Biddlestone, A. (1999). *Treatment of agricultural wastewater in a pilot scale tidal flow reed bed system*. . Enviro. Technol.
- Sun, G., Gray, K., Biddlestone, A. & Cooper, D. (1999a). *Treatment of agricultural wastewater in a combined tidal flow-downflow reed bed system*. (Vol. 40). Wat. Sci. Tech.
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology* (3^o ed.). Sinauer Associates.
- Tarvorasak, V., Piwpuan, N. & Jampeetong, A. (2016). Responses and tolerance to high ammonium levels of hybrid napier grass (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum americanum* cv. Pakchong): Assessing the potential for water treatment and agricultural management in Southeast Asia. *Journal of Science*, 43(5), 1059-1069.
- Third, K., Slikers, A., Kuenen, J. & Jetten, M. (2001). The CANON system (Completely Autotrophic nitrogen removal over nitrite) under ammonium limitation: Interaction and competition between three groups of bacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, 24 (4), 588-596.
- Truong, P. (2002). Vetiver grass technology. In M. Maffei, *Vetiveria the Genus Vetiveria*. (1^o ed., pp. 114 - 120). New York: Taylor & Francis.
- Türe, C. & Bell, R. (2004). Plant distribution and its relationship to extractable boron in naturally-occurring high boron soils in Turkey. *Israel Journal of Plant Sciences*, 125-132.
- Turker, O., Vymazal, J. & Ture, C. (2014). Constructed wetlands for boron removal. A review. *Ecological Engineering*, 64, 350-359.
- Vithanage, M. & Herath, I. (2015). Phytoremediation in constructed wetlands. In A. Ansari, G. Lanza, S. Singh, & R. e Gi, *Phytoremediation: Management of Environmental Contaminants* (Vol. 2, pp. 243-263).

- Vymazal, J. (2001). Types of constructed wetland for wastewater treatment: their potential for nutrient removal. In J. Vymazal, *Transformations on Nutrients in Natural and Constructed Wetlands*. (pp. 1–93). Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers.
- Vymazal, J. (2002). The use of sub-surface constructed wetland for wastewater treatment in the Czech Republic: 10 years experience. *Ecological Engineering*, 18 (5), 633-646.
- Vymazal, J. (2003). Types of Constructed Wetlands 1 st International seminar on the use of aquatic macrophytes for wastewater treatment in constructed wetlands. In V. Dias, & J. Vymazal (Ed.), *Proc. Conf. The Use of Aquatic Macrophytes for Wastewater Treatment in Constructed Wetlands* (pp. 35 - 79). Lisboa: ICN e INAG.
- Vymazal, J. (2005). Horizontal sub-surface flow and hybrid constructed wetlands systems for wastewater treatment. *Ecological Engineering*, 25, 478-490.
- Vymazal, J. (2006). Constructed wetland with emergent macrophytes: from experiments to a high quality treatment technology. *10th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control*, (pp. 1611-1621). Lisbon.
- Vymazal, J. (2007). Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of Total Environment*, 380 (1-3), 48-65.
- Vymazal, J. (2008). Constructed Wetlands for Wastewater Treatment. A review. *The 12th World Lake Conference* (pp. 965 - 974). Czech Republic: Czech Academy of Sciences.
- Vymazal, J. & Kröpfelová, L. (2008). *Wastewater Treatment in Constructed Wetlands with Horizontal Sub-Surface Flow*. Springer Science Business Media B.V.
- Vymazal, J. & Kröpfelová, L. (2005). Growth of *Phragmites australis* and *Phalaris arundinacea* in constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic. *Ecological Engineering*, 23, 606-621.
- Wallace, S. D. & Knight, R. L. (2006). Small-Scale Constructed Wetland Treatment Systems - Feasibility, Design Criteria, Operation and Maintenance Requirements. In *London: IWA, 2006*. United Kingdom, London: Water Environment Research Foundation - WERF.
- Wu, H., Zhang, J., Ngo, H. H., Guo, W., Hu, Z. & Liang, S. (2015). A review on the sustainability of constructed wetlands for wastewater treatment: Design and operation. *Bioresource Technology*, 175, 594-601.
- Yao, F., Shen, G., Li, X., Li, H., Hu, H. & Ni, W. (2011). A comparative study on the potential of oxygen release by roots of selected wetland plants. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 36 (9-11), 475-478.
- Zhang, C., Liu, W. & Wang, J. (2012). Effects of plant diversity and hydraulic residence time on pollutant removals in vertical flow constructed wetland mesocosms. *Ecological Engineering*, 244-248.
- Zhang, C., Wang, J. & Liu, W. (2014). Effects of plants and temperature on nitrogen removal and microbiology in a pilot-scale integrated vertical-flow wetland treating primary domestic wastewater. *Ecological Engineering*, 64, 285-290.

9. Anexos

Anexo I

Equações utilizadas para calcular o Tempo de Retenção Hidráulico (TRH) e taxa de remoção η_m .

- **Cálculos de tempos de retenção hidráulica**

O tempo de retenção hidráulico (TRH) é obtido a partir da equação (2):

$$TRH = V/Q_e = AHP/Q_s \quad (2)$$

Onde:

Q_e - Caudal de entrada no sistema (L/dia), medido a entrada da ZHA todos os dias;

Q_s - Caudal de saída no sistema (L/dia), medido a saída da ZHA todos os dias;

A - Área superficial do leito (m^2);

V- Volume do leito (m^3);

H - Altura do leito (m);

P- é a porosidade, que exprime o espaço disponível para a água entre a matriz, raízes e outros sólidos no substrato das ZHAs.

- **Eficiência de remoção**

Obteve-se eficiência de remoção de cada parâmetro (η_m) aplicando-se a seguinte equação (2):

$$\eta_m = ((C_{he} \cdot C_e - C_{hs} \cdot C_s) / (C_{he} \cdot C_e)) \times 100 \quad (3)$$

Onde:

Ch_e - Carga hidráulica de entrada na ZHA ($L/m^2 \cdot dia$);

Ch_s - Carga hidráulica de saída na ZHA ($L/m^2 \cdot dia$);

C_e - Concentração de entrada (mg/L);

C_s - Concentração de saída (mg/L).

Anexo II

Análises físicas e químicas ao afluyente e ao efluente

- **Determinação de pH**

Este procedimento destina-se a definir a metodologia relativa à determinação do pH, por Potenciometria.

Este procedimento de ensaio é aplicável a todo o tipo de amostras de águas de consumo humano (tratadas e não tratadas), águas naturais doces e em águas residuais, com pH entre 2 e 12 e uma temperatura na gama de 0 a 50°C, de acordo *com Standard Methods of Analysis* (1995). A determinação do pH dá a medida da atividade dos iões H^+ na água.

- **Determinação de potencial de oxidação – redução (potencial redox)**

A determinação do potencial redox das amostras deve ser efetuada utilizando um Potenciómetro WTW, modelo inolab, pH Level 1, de acordo com o indicado em *Standard Methods of Analysis* (1995).

- **Determinação da condutividade elétrica**

A condutividade das amostras foi medida utilizando um Condutímetro Metrom, modelo Metrohm-660 conductometer, e célula condutimétrica, de acordo com o *Standard Methods of Analysis* (1995).

- **Determinação do oxigénio dissolvido**

O oxigénio dissolvido foi determinado de acordo com o método de Winkler modificado (ou método ázida de sódio, para eliminar as interferências causadas pelo nitrito). Baseia-se na oxidação do hidróxido de manganês pelo oxigénio dissolvido, em presença de iodeto alcalino, originando um composto de manganês tetravalente. A acidificação deste composto resulta na redução de Mn^{4+} a Mn^{2+} e o iodeto é oxidado a iodo. O iodo livre, é determinado por titulação com uma solução padrão de tiosulfato de sódio. Seguiu-se a metodologia encontrada no *Standard Methods of Analysis* (1995).

Cálculos:

$$mg\ OD/L = \frac{8000 \times ml\ tiosulfato\ gasto \times volume\ do\ frasco \times titulo\ tiosulfato}{200 \times (volume\ frasco - 4)}$$

- **Determinação do azoto amoniacal**

O método utilizado para a determinação do azoto amoniacal foi o indicado em *Standard Methods of Analysis*, (1995). O pH da amostra foi levado a 9,5 com tampão de borato para evitar a hidrólise de cianetos e compostos orgânicos de azoto. Seguidamente procedeu-se à destilação e receção do destilado em solução de ácido bórico e titulado com uma solução de ácido clorídrico de título conhecido.

Expressão dos resultados

A concentração de azoto amoniacal expressa em mg de azoto por litro, é dada pela seguinte expressão:

$$N - NH_4 = \frac{V_1 - V_2}{V_0} \times c \times 14,01 \times 1000$$

Onde:

V_0 = volume da amostra utilizado, mL

V_1 = volume de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra, mL

V_2 = volume de ácido clorídrico gasto na titulação do ensaio em branco, mL

c - concentração exata da solução de ácido clorídrico, mol/L

14,01- Peso atômico do azoto

- **Determinação de ortofosfato**

O método utilizado é baseado em *Standard Methods of Analysis*, (1995). Consistiu na reação de ortofosfato com molibdato de amônio que na presença de vanádio forma o ácido vanadomolibdofosfórico de cor amarela, e determinação da Absorvâncias da cor a 470 nm.

- **Determinação de Boro**

A determinação do boro foi determinado pelo método da azometina-H ($C_{12}H_{12}NNaO_8S_2$), que consistem num meio com pH ligeiramente ácido (entre pH 6 e o pH 7), o boro reage com a azometina-H formando uma coloração amarela susceptível de ser determinada. O método de referência para determinação do boro é através da espectrofotometria UV/VIS a um comprimento de onda de 420 nm. A concentração de boro é determinada partir da equação reduzida da reta resultante da reta de calibração.

- **Determinação de Nitratos e Nitritos**

A determinação de Nitratos e Nitritos foi obtida através da cromatografia de iônica é uma técnica sensível e seletiva aplicada na separação de íons, mesmo em baixas concentrações, em coluna específica, seguida pela detecção condutimétrica.

Os mecanismos de troca iônica baseiam-se no equilíbrio de troca entre íons em solução e íons de mesmo sinal na superfície de um sólido insolúvel de alta massa molar (resina). As amostras são transportadas por uma fase móvel através de uma coluna onde os trocadores, na forma de partículas micrométricas, possuem grupos funcionais capazes de trocar íons com a solução. No processo de separação dos íons das amostras transportadas pelo eluente, os íons de maior raio iônico hidratados são eluídos primeiro, devido a menor interação com os grupos funcionais. A amostra separada passa por um sistema supressor e depois para o detetor (Arbilla *et al.*, 2009).

Quadro 4 – Condições utilizadas para análise dos nitratos e nitritos em solução aquosa por cromatografia iônica.

Coluna	Metrosep A Supp 5 – 250/4.0
Eluente	C ₂ H ₂ (Acetileno)
Fluxo de vazão do sistema	0,700 ml/min
Pressão do sistema	12,37 MPa
Amostrador automático	930 Compact IC Flux 1

Anexo III

Análises físicas e químicas á biomassa vegetal

- **Taxa de crescimento**

No início do trabalho, procedeu-se à marcação aleatória de *Vetiverias zizanioides*, em cada um dos leitos. Durante a realização do trabalho, foram medidas, as plantas marcadas em cada leito, tendo como objetivo determinar a taxa de crescimento das mesmas.

- **Teor de humidade**

O método gravimétrico utilizado para a determinação da percentagem de humidade das plantas baseia-se na diferença de massas de uma amostra quando submetida a uma secagem na estufa 102 °C, até peso constante.

A percentagem de humidade na planta, expressa em percentagem, é dada pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ de humidade} = \frac{\text{massa de amostra seca } (m_2 - m_3)}{\text{massa de amostra humida } (m_2 - m_1)} \times 100$$

Onde:

m_1 – Média da massa do cadinho vazio (g);

m_2 – Massa do cadinho com a planta (g);

m_3 – Média da massa do cadinho com as plantas após a desidratação (g).

- **Determinação de cálcio (Ca^{2+}) e magnésio (Mg^{2+})**

Para a determinar os elementos de Ca^{2+} e Mg^{2+} utilizou-se da técnica espectrofotometria de absorção atómica de chama.

Nas determinações efetuadas por emissão de chama, os átomos do analito, excitados pela chama servem de fonte de radiação, não sendo requerido nenhuma fonte externa. A radiação emitida, na zona média da chama, passa através de um monocromador, incidindo posteriormente num detetor de radiação.

As condições operacionais são otimizadas de acordo com o Manual de Operações fornecido pela VARIAN para o Espectrómetro de Absorção Atómica da VARIAN, modelo SpectraAA 220 FS. Cada sessão foi iniciada com a leitura dos padrões da reta de calibração correspondente a cada elemento, seguida da leitura das amostras, lendo-se um padrão de controlo de 6 em 6 amostras. No final de sessão de trabalho procedeu-se à leitura de um padrão de controlo e um branco. Realizou-se as curvas de calibração por

regressão linear de absorvência em função da concentração dos padrões para cálcio e magnésio.

Os resultados obtidos a partir da equação da reta estavam expressos em mg/L, para a conversão a mg Ca²⁺ ou Mg²⁺/g biomassa seca, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$mg/g_{biomassa\ seca} = \frac{Cc \times FD}{m}$$

Em que:

Cc – Concentração do elemento mineral dado a partir da equação da reta (mg/ mL);

FD – Fator de diluição (amostra utilizada foi proveniente da digestão e diluída para 100 mL);

m – Massa da amostra previamente seca e digerida (g).

• **Determinação de sódio (Na⁺) e potássio (K⁺)**

Para determinar em simultânea de sódio e potássio utilizou-se o fotômetro de chama, Flame Photometer 410. É a mais simples das técnicas analíticas baseadas em espectroscopia atômica. A espectroscopia atômica baseia-se em métodos de análise de elementos de uma amostra, geralmente líquida, que é introduzida em uma chama, na qual ocorrem fenômenos físicos e químicos, como evaporação, vaporização e atomização.

Os átomos na fase gasosa podem ser excitados pela própria chama ou por uma fonte externa. Se forem excitados pela chama, ao retornarem para o estado fundamental, liberam a energia na forma de radiação eletromagnética. Essa é a base da espectrometria de emissão atômica que, também é conhecida como fotometria de chama e é utilizada em diversas análises, como por exemplo, para averiguar a quantidade de íons de metais alcalinos e alcalino - terrosos, como sódio, potássio entre outros.

- **Determinação de fósforo (P)**

O método consistiu na mineralização da amostra por via seca e solubilização com ácido, para se obter a conversão das formas de interesse para ortofosfato dissolvido e a sua posterior determinação colorimétrica após reação com molibdato de amónio que na presença de vanádio forma o ácido vanadomolibdofosfórico de cor amarela. A determinação é feita por espectrofotometria a um comprimento de onda 470 nm.

A concentração de fósforo, expressa em mg P/g biomassa seca, calcula-se a partir da fórmula abaixo indicada:

$$mg/g \text{ biomassa seca} = \frac{C_p \times FD}{m}$$

Onde:

C_p – Concentração obtida da solução analisada a partir da curva de calibração (mg P/L);

FD – Fator de diluição (amostras utilizada foi proveniente da digestão ácida e diluída para 100 mL);

m - Massa da amostra previamente seca e digerida (g).

- **Determinação do azoto Kjeldahl (N-Kj)**

Este método permite o doseamento do azoto no estado trivalente negativo. Considera-se como azoto de Kjeldahl o azoto orgânico e amoniacal contido numa amostra, e passíveis de doseamento após mineralização. O azoto na forma de azida, azina, azoico, hidrazona, nitroso, nítrico, oxina e semicarbazona não é quantitativamente doseado.

O método baseia-se numa mineralização dos compostos orgânicos contidos na amostra, em presença de ácido sulfúrico concentrado a quente, e em presença de sulfato de potássio que eleva o ponto de ebulição da mistura e de selénio como catalisador.

O sulfato de amónio formado é destilado em meio fortemente alcalino, este destilado é recolhido numa solução de ácido bórico com indicador de vermelho de

mertilo e azul-de-metileno de uma base forte e, titulado com uma solução de ácido clorídrico de concentração conhecida.

Em paralelo é realizado um ensaio em branco, sendo que se mineralizou igual quantidade de papel de filtro utilizada para guarda as amostras.

A concentração de azoto Kjeldahl (N-Kj.) expressa em mg N/g biomassa verde, é dada pela seguinte expressão:

$$N - Kj = \frac{(V_A - V_B) \times C \times 14,01}{m}$$

onde:

V_A = volume de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra, (ml);

V_B = volume de ácido clorídrico gasto na titulação do ensaio em branco, (ml);

C - concentração do titulante (N ou mol/dm³);

m – Massa da amostra previamente seca e digerida (g);

14,01- peso atômico do azoto.

• **Determinação do teor de Clorofila a, b, total e Carotenoides**

O teor de clorofila A, B e total e carotenoides totais nas folhas foram analisados de acordo com a metodologia de Lichtenthaler (1987), tendo sido cortados e macerados aproximadamente 0,025 g de folha, e adicionado de 25 mL de etanol a 96%. As amostras ficaram 24 horas no escuro a temperatura ambiente a incubar. Procedeu-se à leitura das absorvâncias das soluções no espectrofotômetro a vários comprimentos de onda (664,2; 648,6 e 460 nm).

A concentração da Clorofila a (C_a), b (C_b), total (C_a+b) e Carotenoides totais (C_x+c), expressado em mg/g biomassa verde, é respetivamente calculada pelas seguintes expressões:

$$Ca = \frac{(13,36 \times Abs_{664,2} - 5,19 \times Abs_{648,6}) \times 8,1}{m}$$

$$Cb = \frac{(27,43 \times Abs_{648,6} - 8,12 \times Abs_{662,2}) \times 8,1}{m}$$

$$Ca + b = \frac{(5,24 \times Abs_{664,2} - 22,24 \times Abs_{648,6}) \times 8,1}{m}$$

$$Cx + c = \frac{(4,785 \times Abs_{470} - 3,657 \times Abs_{664,2} - 12,76 \times Abs_{648,6}) \times 8,1}{m}$$

Onde:

Abs_{470} – Absorvância na leitura de 470 nm;

$Abs_{648,2}$ – Absorvância na leitura de 648,2 nm;

$Abs_{664,6}$ – Absorvância na leitura de 664,6 nm;

m – massa de planta verde (g).

Anexo IV

Resumo submetido para a apresentação em painel no 4º Simpósio de Produção e Transformação de Alimentos em Ambiente Sustentável na Faculdade de Ciências e Tecnologia de Lisboa (7 de Junho de 2018).

Remoção de Boro presente em águas residuais por recurso a Fitoremediação

Pedro Correia¹; Adelaide Almeida¹; Fátima Carvalho¹; Anabela Durão²

¹ Departamento Tecnologias e Ciências Aplicadas, Instituto Politécnico de Beja (IPBeja),
Rua Pedro Soares, apartado 6155, 7800-295, Beja, Portugal

² Departamento de Engenharia, Instituto Politécnico de Beja (IPBeja), Rua Pedro Soares,
apartado 6155, 7800-295, Beja, Portugal

A contaminação da água superficial e subterrânea, derivada do excesso de boro (B), pode provocar toxicidade e efeitos crónicos nas culturas e plantas, podendo também contaminar o substrato e/ou sedimentos, assim como, promover problemas na reprodução de algumas espécies de animais e em Humanos. Portanto, é necessário tratar os afluentes urbanos ou industriais por forma a minimizar/reduzir a presença deste contaminante nas águas utilizadas quer para rega quer para produção de águas para consumo humano. O tratamento dos afluentes é muitas vezes efetuado através de eletrocoagulação, troca iónica, adsorção, entre outros. Estas tecnologias são conhecidas pela sua eficiência na remoção de alguns poluentes, como metais pesados e matéria orgânica, porém, não se adequam à remoção de boro. As zonas Húmidas Artificiais (ZHA), são tecnologias ambientalmente sustentáveis com características e processos semelhantes às zonas húmidas naturais e que servem para o tratamento de águas residuais. Muito recentemente as ZHA começaram a ser utilizadas para efetuar o tratamento de águas residuais poluídas com boro.

O objetivo deste estudo é avaliar: (i) o efeito do boro sobre o desenvolvimento e composição da biomassa foliar, os mecanismos de fitoremediação de B; (ii) as eficiências de remoção de boro. Para o efeito utilizou-se uma ZHA plantada com *Vetiveria zizanioides*, enraizada em agregados leves de argila expandida e com fluxo em

modo subsuperficial vertical. Esta ZHA foi alimentada com afluente sintético, com concentrações de boro até 10 mg/L e manteve-se a carga hidráulica (Ch) afluente à ZHA constante ($Ch=180 \text{ L m}^{-2} \text{ d}^{-1}$).

Os resultados obtidos mostram que ocorreu um ligeiro amarelecimento nas folhas da planta utilizada, causado por eventuais efeitos tóxicos do boro. Obtiveram-se eficiências de remoção de B até 40%.

Anexo V

Resumo submetido para a apresentação em painel no 5º Simpósio de Produção e Transformação de Alimentos em Ambiente Sustentável na Escola Superior Agrária de Beja (7 de Junho de 2019).

Remoção de compostos de azoto em efluentes por recurso a Fitoremediação

P. Correia¹; H. Chaves¹; C. Ribeiro¹; F. Carvalho¹; A. Almeida¹

¹. Departamento Tecnologias e Ciências Aplicadas, Instituto Politécnico de Beja (IPBeja), Rua Pedro Sores, apartado 6155, 7800-295, Beja, Portugal

A contaminação das massas de água (superficial e subterrânea) tem vindo a aumentar, essa contaminação pode ser derivada ao excesso de compostos de azoto proveniente de atividades agrícolas, industriais e entre outras. O excesso de azoto nas massas de água provoca eutrofização, que leva à redução do oxigénio dissolvido na água, é por consequência leva á morte dos seres vivos aquáticos (plantas e animais).

Portanto, é necessário tratar os afluentes urbanos ou industriais de forma a minimizar/reduzir a presença deste contaminante previamente à sua deposição no meio hídrico ou no substrato ou reutilização. Em geral estes efluentes são tratados em estações de tratamento de águas residuais (ETAR), que apresentam elevadas eficiências de remoção de matéria orgânica e de nutrientes, cumprindo com o estipulado na legislação. No entanto apresentam elevados custos de operação e manutenção, pelo que é urgente avaliar a possibilidade de utilização de tecnologias alternativas e de baixo custo e que permitam efetuar o tratamento de uma forma sustentável, mas cumprindo os valores exigidos no normativo nacional e comunitário como são as Zonas Húmidas Artificiais (ZHA).

Com este trabalho pretende-se estudar a influência de alguns parâmetros que interferem com a remoção de compostos de azoto em ZHA, nomeadamente a profundidade da ZHA e a composição da O trabalho foi realizado em duas ZHA (0,24 m² × 0,70 m (ZHA 1); 0,24 m² × 0,35 m (ZHA 2)), plantadas com *Vetiveria zizanioides*,

com escoamento vertical, em modo contínuo. Foi utilizado um efluente com concentração de azoto amoniacal (N-NH_4^+) de: 20 ± 3 ; 20 ± 7 mg/L e de 86 ± 2 mg/L, a carga hidráulica média foram de $147 \text{ L/m}^2 \text{ d}^{-1}$.

Obtiveram-se eficiências de remoção de N-NH_4^+ máximas de 39 ± 5 % e de 33 ± 9 %, na ZHA 1 e ZHA 2, respectivamente. Estabeleceu-se uma relação linear múltipla entre a concentração de entrada de N-NH_4^+ e a carga hidráulica (Ch), que permitiu determinar a concentração de saída de N-NH_4^+ . Obtiveram-se coeficientes de correlação de $R=0,91$ para ZHA 1 e um $R=0,87$ para a ZHA 2. O teor em minerais e nutrientes, presentes na biomassa diminuíram ao longo dos ensaios e mais na ZHA 2. A profundidade da ZHA teve influência sobre a remoção de azoto amoniacal e composição da biomassa folia

